

Amniyon Zar Transplantasyonu

Muhsin Salkaya (*), Murat Doğru (**), Ahmet Özmen (***), Haluk Ertürk (***), Hikmet Özçetin (***)

ÖZET

Amniyon zarı ilk kez 1910'da Davis tarafından deri transplantasyonunda cerrahi materyal olarak kullanılmıştır. Oftalmolojide ilk defa De Roth, konjonktiva defektlerinin kapatılması ve simblefaron onarımında amniyon zar transplantasyonunu gerçekleştirmiştir. Amniyon zarı, aynı zamanda medikal tedaviye cevap vermeyen kornea ülserlerinde, sızdıran filtran bleb onarımında ve oküler yüzey rekonstrüksiyonunda da kullanım görmüştür. Elde edilmesi kolay olup dondurularak aylarca saklanabilir. Bu yazıda amniyon zarının özellikleri, yararlı etkileri, kullanım endikasyonları ve transplant sonrasında karşılaşılan sorunlar vurgulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Amniyon zarı, transplantasyon, kornea ülseri

SUMMARY

Amniotic Membrane Transplantation

Amniotic membrane has first been used as surgical dress material in skin transplantation by Davis in 1910. In Ophthalmology, de Roth has first performed amniotic membrane transplantation in the repair of conjunctival defects and reconstruction of symblepharon. In addition, amniotic membrane has found use in the treatment of recalcitrant corneal ulcers, repair of leaky filtering blebs and ocular surface reconstruction. Amniotic membrane is easy to obtain and can be stored for months after freezing. This article stresses the properties of amniotic membranes, beneficial effects, indications of use and complications after transplantation.

Key Words: amniotic membrane, transplantation, corneal ulcer,

GİRİŞ

Amniyon zarı ilk kez 1910'da Davis tarafından yanıklarda yanık yüzeyinin kapatılmasında biyolojik örtü olarak kullanılmıştır (1). Daha sonraları ise kronik bacak ülserlerinde epitelizasyon sağlamak, ağrıyı azaltmak ve enfeksiyonları önlemek için kullanılmıştır (2-9). Jinekolojide yapay vajina oluşturulmasında (2,10-12), pediatrik cerrahide omfalosel onarımında (2,13), karın-baş-pelvis cerrahi prosedürlerinde ise doku adezyonunun önlenmesinde kullanılmıştır (2,14,15). Oftalmolojide ilk defa De Roth, konjonktiva defektlerinin kapatılması ve

simblefaron onarımında amniyon zar transplantasyonunu gerçekleştirmiştir (16).

Amniyon zarının özellikleri

Kalın bir bazal membrana sahip olan plasenta 2 tabakadan oluşur. Dışta koryon laeveye ait trofoblastik doku ve mezenseşim yer alırken; iç tarafta 5 kattan oluşan amniyon zarı yer alır. Amniyon zarı, epitel, aselüler bazal membran, kompakt kat, mezenkimal hücre katı ve süngersi katlardan oluşur. Kollajence zengin avasküler matriksi vardır (17). Amniyon zarının HLA doku antije-

(*) Araş.Gör., Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

(**) Yrd. Doç. Dr., Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

(***) Prof. Dr., Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

Mecmuaya Geliş Tarihi: 06.07.2001

Düzeltilmeden Geliş Tarihi: 28.02.2002

Kabul Tarihi: 11.03.2002

nitesi yok denecek kadar azdır; sadece kompakt kat ve mezenkimal hücre katının çok az antijenitesi olduğu rapor edilmektedir (18).

Amniyon zarının etkileri

Salgıladığı büyüme faktörlerinin; bazik fibroblast growth faktör, hepatosit growth faktör, transforming growth faktör beta, epidermal growth faktör, keratinosit growth faktör etkisiyle reepitelizasyonu uyarır (19). İçerdiği matriks metalloprotein-3 ile proteaz aktivitesini inhibe eder (20,21). Antianjiyojenik ve antiinflamatuvar etkileri amniyon zarının epitelyal ve mezenkim hücreleri tarafından salgılanan proteinlerle (İnterlökin 1 reseptör antagonisti, doku metalloproteinaz inhibitörü 1-2-3-4, İnterlökin-10, Trombospondin-1) olur (22). Çevreden üzerine epitelyal göçü kolaylaştıran iyi bir zemin olma özelliği vardır (23). Amniyotik bazal membran epitelyal hücrelerin adezyonunu güçlendirir (24). Epitelyal hücrelerin proliferasyonunu ve diferansiyasyonunu kolaylaştırır, orijinal epitelyal fenotipin devamına destek olur ve goblet hücrelerinin de diferansiyasyonunu kolaylaştırır (25,26,27).

Amniyotik membran stromal matriksi transforming growth faktör beta salgılanmasını inhibe eder. Böylece kornea myofibroblastlarının, limbal-konjonktiva-pterjium fibroblastlarının proliferasyonu ve diferansiyasyonu önlenmiş olur (antifibrotik etki). Bu özellik nedeniyle amniyotik membran, fototerapik keratektomi ve fotorefraktif keratektomi sonrası oluşan korneal bulanıklığı da giderir (20,28-38). Amniyon zarı enflamatuvar hücrelerin apoptotik ölümünü uyarırken, epitelyal hücrelerin apoptozisini ise önler, sinirlerin yeniden büyümesini kolaylaştırır (18). Saklama ile yara iyileşmesinde önemli büyüme faktörlerinin (bazik fibroblast growth faktör, hepatosit growth faktör, transforming growth faktör beta, epidermal growth faktör, keratinosit growth faktör) miktarında azalma olur. Antimikrobiyal etkiye de sahiptir (39). Kısaca amniyon zarı, transplante edilmiş bazal membran özelliği taşıması ile epitel hücrelerinin adezyonu, migrasyonu ve diferansiyasyonunu destekler. Apoptozisi ise önler. Ayrıca epitelyal progenitör hücrelerin büyümesi ve çoğalması için ideal zemindir ve de sahip olduğu bir çok kimyasal mediatörlerin etkisiyle yara iyileşmesine katkı sağlar (40,41).

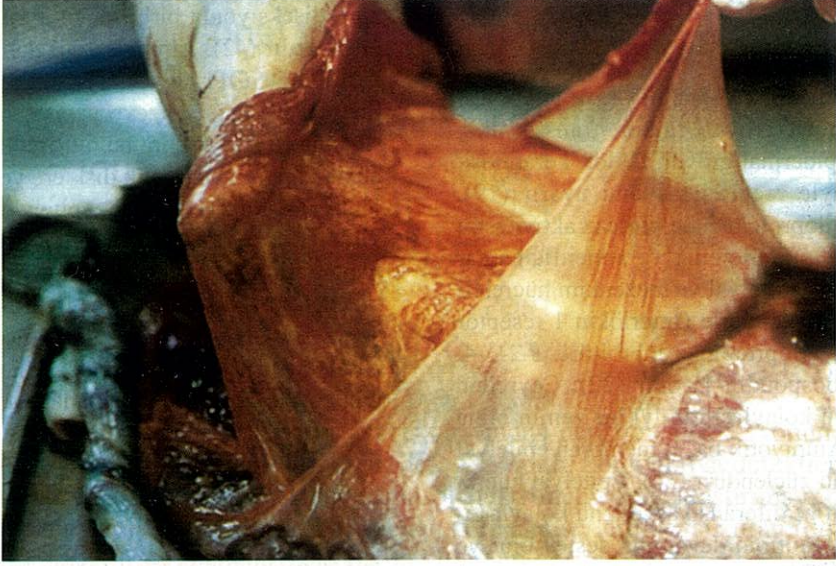
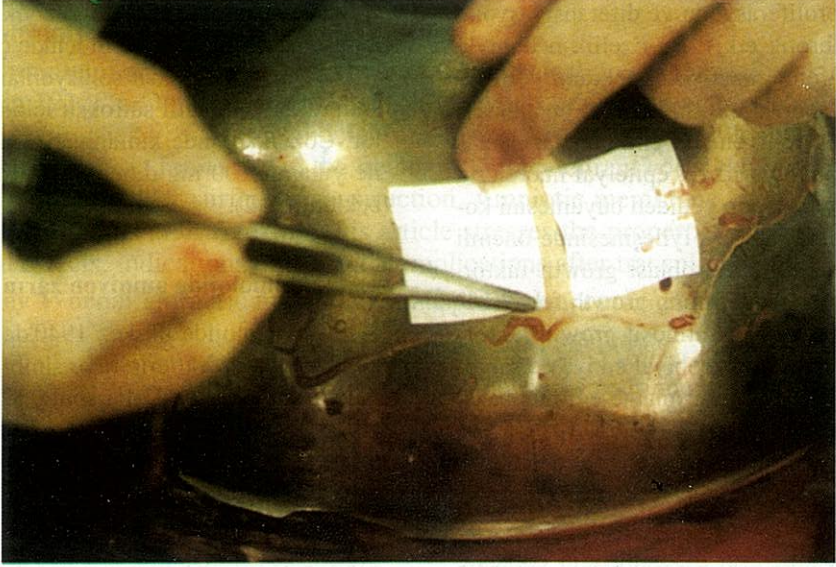
Amniyon zarının hazırlanışı

Amniyon zarı sifiliz, HIV, hepatit B ve C testleri negatif gebelerden seksiyi sırasında steril olarak alınır. İki metod ile amniyon zarı hazırlanabilir. Bu metodlardan birincisinde plasenta önce içinde penisilin (50 µg/ml), streptomisin (50 µg/ml), neomisin (100 µg/ml),

amfoterisin B (2.5 µg/ml) bulunan steril dengeli salin solüsyonuyla üzerindeki kan pıhtılarından ve fetal artıklardan temizlenmesi için yıkanır. Amniyon ve koryon basit künt diseksiyonla birbirinden ayrılır (Resim 1), koryon kısmı atılır (42). Amniyon zarı daha sonra steril nitroselüloz kağıt üzerine epitelyal yüzeyi yukarıda, stromal matriks ise kağıt yüzeye yapışık olacak şekilde yayılır (Resim 2). Daha sonra bu nitroselüloz kağıt kullanılacak alana göre birkaç cm lik disklere veya kare parçalara bölünür (Resim 3). Düğümü epitelyal yüzeyde kalacak şekilde 8/0 ipek sütür atılır. Bu şekilde epitelyal yüzeyin hangi tarafta olduğu karıştırılmamış olur. Amniyon zarı taze olarak kullanılabilmesi gibi dondurularak aylar sonra bile kullanılabilir. Gliserinle 1:1 oranında karıştırılmış kornea saklama solüsyonlarıyla (K-sol, Dexsol, Optisol) dondurularak saklanabilir (Resim 4). -20°C de bir aydan daha kısa süre, -80°C de ise bir aydan daha uzun süre saklanabilir. Taze kullanımda allograft rejeksiyonu dondurulmaya göre biraz daha sık meydana gelir (18). Dondurulma ve çözülme işlemlerinde epitel hücreleri ölür, sitokinler aktif olarak kalır ama miktarlarında azalma olur (19). Amniyon zarı hazırlamak için ikinci metotta plasenta önce serum fizyolojikle veya 100 mg dibekasin sülfat içeren 0.01M fosfatla zenginleştirilmiş salin ile yıkandıktan sonra künt diseksiyonla amniyon zarı koryondan ayrılır. Amniyon zarı 0.01 M fosfatla zenginleştirilmiş salin ile 3 kez yıkanır. Daha sonra fosfatla zenginleştirilmiş salin içinde çözüldürülmüş 0.5-1.5 M dimetil sülfoksit solüsyonlarıyla beşer dakika yıkanır. 1.5 M dimetil sülfoksit içinde -80°C de dondurulur. Çözündüğünde kullanmadan önce yine 3 kez salin ile yıkanır, 100 mg dibekasin sülfat içeren solüsyonda bekletilir (42).

Oftalmolojide amniyon zarının kullanım alanları

Oftalmolojide ilk kez 1940'da De Roth tarafından konjonktiva defektlerinin ve simblefaronun onarımında kullanılmıştır (16). Daha sonra 1995'de Kim ve Tseng alkali yanıklı tavşan korneasında oküler yüzey rekonstrüksiyonu için kullanmışlar ve epitelyasyonu kolaylaştırıcı bir yöntem olduğunu göstererek, oküler yüzey rekonstrüksiyonu için kullanılabilmesini belirtmişlerdir (43). 1996'da ilk kez Tsubota ve arkadaşları ciddi oküler yüzey hastalığı ve limbal yetersizliği olan Stevens-Johnson sendromlu ve oküler skatrisyel pemfigoidli 11 hastanın 14 gözüne keratolimbal allograft ile amniyon zarı transplantasyonunu kombine etmişler ve iyi sonuçlar almışlardır (44). Amniyon zarı, medikal tedaviye cevapsız persistan veya rekürren kornea epitel defektlerinde kullanılabilir. Enfeksiyon, fiziksel veya kimyasal yanıklar, nöroparalitik keratitler, keratomalazi, ciddi keratokonjonktivitis sikka gibi oküler yüzey hastalıklarında hem

Resim 1. Amniyon zarının kaba diseksiyonla koryondan ayrılması**Resim 2.** Amniyon zarının nitroseluloz kağıda tespiti

hastalıklı yüzey örtülerek yara iyileşmesi uyarılır, hemde gelecekte başarılı bir keratoplastiye zemin hazırlanmış olur. Aynı zamanda perforan bölgeyi fibriyojen ve fibrin ile doldurulup amniyon zarı örtüsü ile kaplandığında keratosit invazyonu ve delik olan alanı kapatmak için çatı görevi görür (45). Konjonktiva tümörü, yanık, pemfigoid de eksiz edilen konjonktiva alanı-

nı kapatmak için kullanılabilir (30). Persistan epitel defekti, vaskülarizasyon, skarlaşma, kalsifikasyon, ülserasyon, incelleme ve perforasyona neden olabilen diffuz limbal kök hücre yetersizliği (Stevens-Johnson sendrom, oküler skatrisyel pemfigoid, kimyasal ve termal yanık) olan hastalar keratoplasti için kötü adaylardır. Parsiyel penetran veya lamellar keratoplasti geçici çözüm sağlar.

Resim 3. Amniyon zarının nitroseluloz kağıda sütürasyon*Resim 4. Amniyon zarının saklanması*

Amniyon zar transplantasyonu ve limbal transplantasyon kombine yapılırsa daha kalıcı çözüm üretilir (26,27). Simblefaronda bulber ve palpebral konjonktivalar eksiz edilerek amniyon zarı ile yeni bir forniks oluşturulabilir. Kuru gözde punktumlar amniyon zarı ile kapatılabilir (18). Budenz ve ark., 5 vakada sızdıran glaukom blebinin onarılmasında amniyon zarını başarı ile kullanmışlar; alternatif tedavi yöntemi olarak önermişlerdir (46). Aynı çalışmacının yaptığı başka bir çalışmada ise bleb onarımında amniyon zar transplantasyonu ve konjonktival ilerletme kıyaslanmış, onbeşer olgudan oluşan iki grup çalışmaya alınmış; amniyon zar transplantasyonu ile 8 başarılı olgu bildirilirken, konjonktiva ilerletmesinin yapıldığı tüm olgularda başarılı sonuç alınmış, çalışmacılar sonuçta amniyon zar transplantasyonunun bleb onarımında konjonktival ilerletmeye iyi bir alternatif olmadığı sonucuna varmışlardır (47). Primer pterijiyumda amniyon zarı kullanımı ile ilgili Hui-Kang Ma ve ark nın yaptığı bir çalışmada; amniyon zar transplantasyonu ile tedavi edilen 80 göz ortalama 13.8 ay takip edilmiş olup, %3.8 nüks meydana gelmiştir. Konjonktival otogreftleme ile tedavi edilen 56 göz ortalama 22.8 ay takip edilmiş; %5.4 lük bir nüks meydana gelmiştir. Topikal Mitomisin C kullanılan 54 göz ortalama 18.4 ay takip edilmiş ve %3.7 oranında nüks bulunmuştur (31). Ciddi semblefaron ve diplopiye nedeniyle olmuştur rekürren pterijiyumda da amniyon zarı başarıyla kullanılmıştır (29). Kontrolsüz glaukonda mitomisin' C ile birlikte subkonjonktival fibrozisi inhibe etmek için

skleral flep altına başarıyla uygulanmıştır (48). Tavşanlarda excimer laser fotoablasyondan sonra meydana gelen korneal bulanıklığın giderilmesinde amniyon zar transplantasyonu kullanılarak iyi sonuçlar alınmıştır; aşırı yara iyileşmesinin tetiklediği bulanıklık amniyon zar transplantasyonu ile inhibe edilmiştir (32,49). Medikal tedaviye dirençli konjonktival şalazisi olan 47 gözde de amniyon zarı kullanılmıştır. %97.8 gözde stabil ve düz bir konjonktival yüzey elde edilebilmiştir (50). Koizumi ve arkadaşları, tavşanlarda yaptıkları bir çalışmada bir gözde lamellar keratektomi ile oküler yüzey hasarı oluşturduktan sonra, diğer gözün limbusundan biyopsi ile alınan hücreleri aselüler amniyotik membran üzerine kültür ortamında ekim yapmışlardır. Bu hücreler kültürde çoğaltıldıktan sonra yeniden hasarlı bölgeye transplante edilmiş ve cerrahiden 5 gün sonra epitelizasyon sağlanmıştır (51). Bir başka çalışmada ciddi kornea ve sklera ülserasyonlu 11 gözde çok katlı amniyon zar transplantasyonu uygulanmıştır. Ülser boşluğu amniyon zarı stroması ile doldurulduktan sonra, çevresi deepitelize edilmiş, üzeri amniyon zarı ile örtülmüştür. 8 gözde 16.5 günde epitelizasyon sağlanmış, 3 gözde persistan epitel defekti devam etmiştir. 42 haftalık takipte epitel defekti oluşmamıştır (52). Sridhar ve arkadaşları ilk kez akut dönemdeki kimyasal ve termal yanıklı 2 göze ilk bir haftada amniyon zar transplantasyonu uygulamışlardır. Kimyasal yanıkta 4 ay sonra termal yanıkta ise 6 ay sonra bile oküler yüzey stabil kalmıştır (53). Pires ve arkadaşları, glokom için 5-FU (fluorourasil) kullanımına bağlı parsiyel limbal kök hücre yetersizliği olan gözlerle amniyon zar transplantasyonu uygulamışlar. 15 aylık takipleri sonucunda yeterli görme artışı elde ederek, korneal yüzeyin düzgün ve avasküler kaldığını, limbal kök hücre yetersizliği bulgularının görülmeyeceğini rapor etmişlerdir (54). Anderson ve arkadaşları, parsiyel limbal kök hücre yetmezlikli 17 göze amniyon zar transplantasyonu uygulayıp, hastaların ortalama 25.8 aylık takibinde tüm gözlerin stabil kaldığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada ortalama 22.8 günde epitelizasyon sağlanmış olup, görme potansiyeli olan 14 gözde %92.9 oranında görme artışı elde edilmiştir. Bu çalışmada ağrı ve fotofobi şikayetleri %86 olguda azalmış olup, amniyon zar transplantasyonunun etkili bir tedavi yöntemi olduğu, parsiyel kök hücre yetersizliğinde limbal oto veya allogreftlere iyi bir alternatif olabileceği sonucuna varılmıştır (55). Chen ve arkadaşları, nörotrofik ülserli 16 göze tek veya çok tabakalı amniyon zar transplantasyonu uygulayıp; %76.4 olguda 16.6 günde epitelizasyon sağlamışlardır. Tarsorafi gibi ek tedavi yöntemleri gerektiren diğer vakalarda ise epitelizasyonun 74 güne kadar uzadığını bildirmişlerdir (56). Mejia ve arkadaşları, hiçbir koruyucu madde içermeyen steril serum fizyolojiklerle hazırladıkları ve 24 saat buzdolabında yine se-

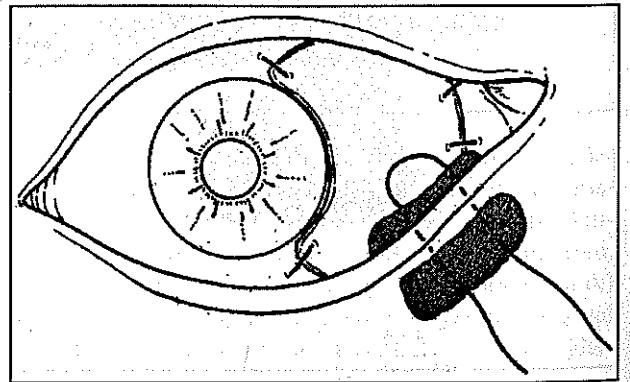
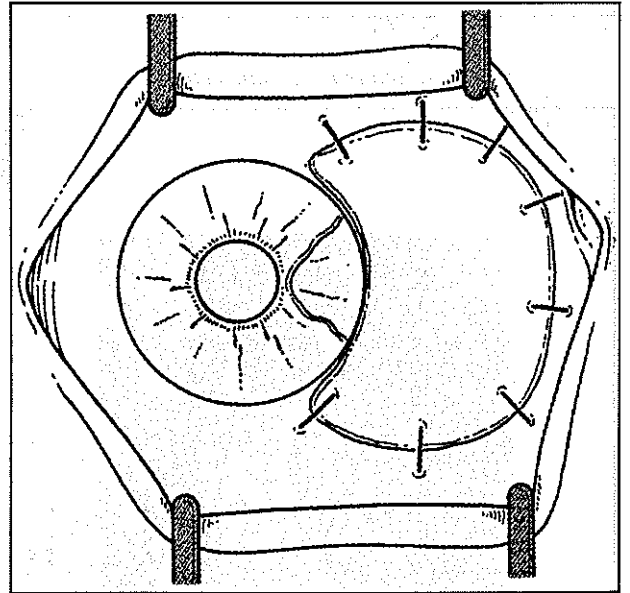
rum fizyolojik içinde sakladıkları amniyon zarını, nonin-vaziv konjonktiva squamöz hücre karsinomu, persistan kornea epitel defekti, ciddi alkali yanığı, multipl cerrahi girişimlere bağlı neredeyse total limbal yetersizliği ve oküler skatrisyel pemfigoidi olan 5 hastada kullanmışlardır. Hastaların bir kısmına limbal greftleme de yapılmış olup, sadece alkali yanıklı hastada limbal otogreft iskemisine bağlı kısmi başarı elde edilmiştir. Diğer olgularda tatmin edici sonuçlar elde edilmiş; olgularda amniyon zarı enfeksiyonu ve nekrozu ise oluşmamıştır (57).

Cerrahi uygulama örnekleri

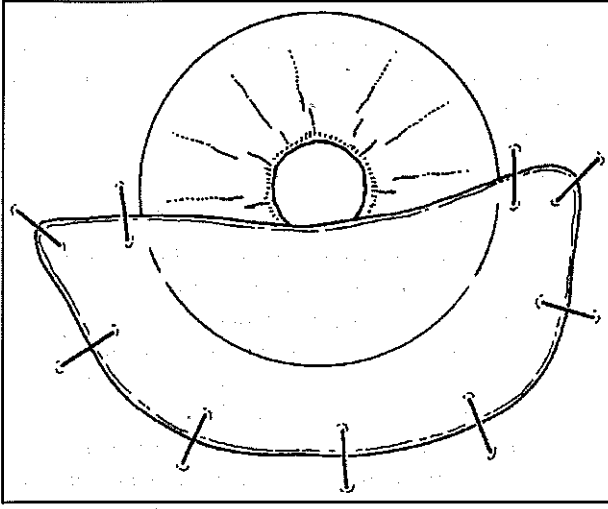
Pterijiyumda amniyotik zar uygulaması

Kornea ve sklera üzerindeki anormal proliferasyon gösteren dokular uzaklaştırılır. Amniyon zarı saklama solüsyonundan çıkarılır, nitroselüloz kağıdından dikkatlice uzaklaştırılır, epitelial yüzey yukarıda olacak şekilde

Resim 5A ve 5B. Pterijiyumda amniyotik zar uygulaması



Resim 6. Periferik kornea ülserinde amniyotik zar uygulaması



amniyon zarı alıcı bölgeye yerleştirilir, fazlalıklar eksize edilir, 10/0 naylon veya 9/0 vikril sütün ile episkleraya sütünre edilir (resim 5A). Amniyon zarının kapaklara yapışmaması için araya sponj konulabilir (resim 5B).

Periferik kornea ülserinde amniyotik zar uygulaması

Ülser ve çevresindeki alan deepitelize edilir, Resim 6 da görüldüğü gibi peritomi yapılır ve konjonktiva eksize edilir. Amniyon zarı saklama solüsyonundan çıkarılır, nitroselüloz kağıdından dikkatlice uzaklaştırılır, epitelyal yüzey yukarda olacak şekilde amniyon zarı alıcı bölgeye yerleştirilir, fazlalıklar eksize edilir, amniyon zarı 10/0 naylon veya 9/0 vikril sütün ile episkleraya sütünre edilir.

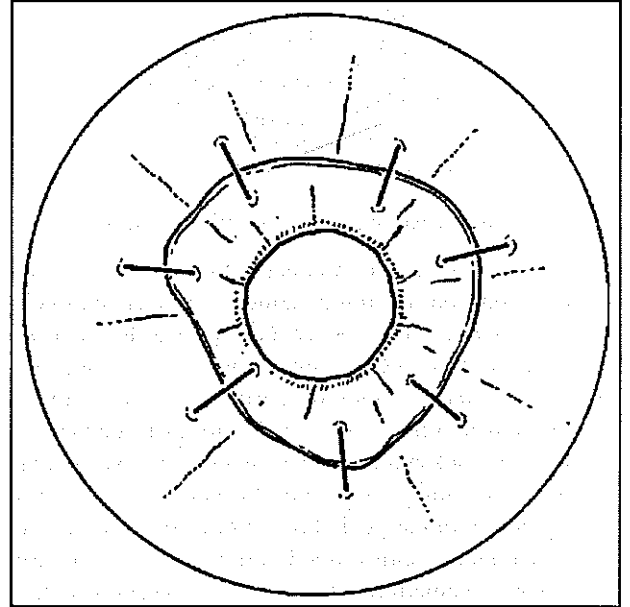
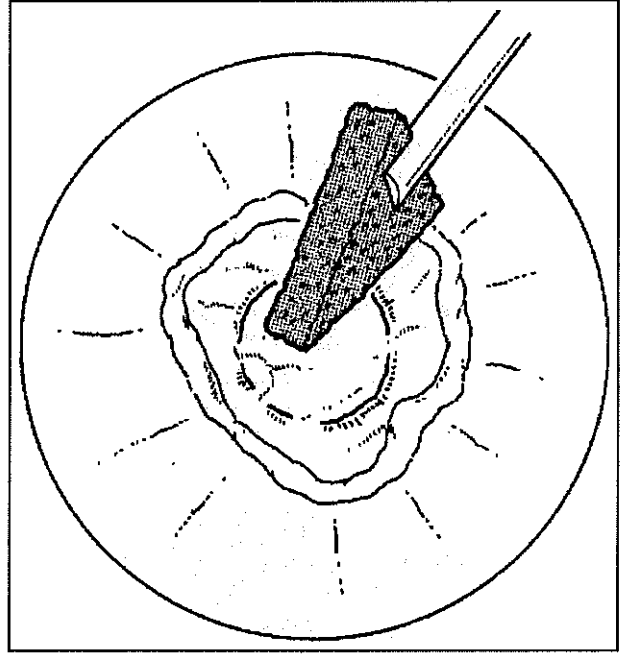
Santral kornea ülserinde amniyotik zar uygulaması

Ülser ve çevresindeki alan deepitelize edilir. Amniyon zarı saklama solüsyonundan çıkarılır, nitroselüloz kağıdından dikkatlice uzaklaştırılır, epitelyal yüzey yukarda olacak şekilde amniyon zarı alıcı bölgeye hafifçe geniş olacak şekilde yerleştirilir, fazlalıklar eksize edilir,. Ülserin derinliğine göre ülser boşluğu önce amniyon matriks ile doldurulur (Resim 7A). Düz bir yüzey elde edildikten sonra ülser alanı amniyon zarı ile çok katlı olarak örtülür. Her kat 10/0 naylon veya 9/0 vikril sütün ile korneaya sütünre edilir (Resim 7B).

Oküler yüzey rekonstrüksiyonunda amniyotik zar uygulaması

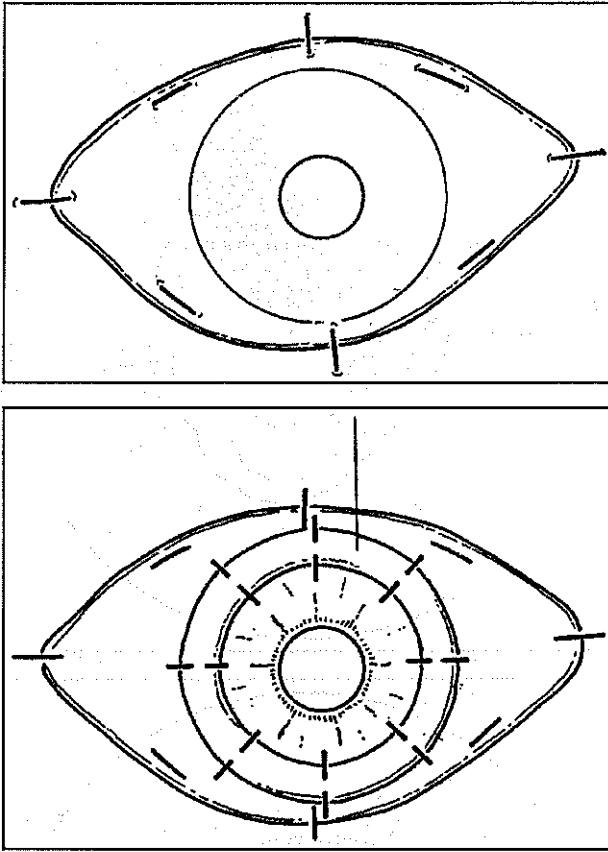
360° peritomi yapılır. Konjonktiva epiteli ve fibrovasküler pannus dokusu eksize edilir. Amniyon zarı sak-

Resim 7A ve 7B. Santral kornea ülserinde amniyotik zar uygulaması



lama solüsyonundan çıkarılır, nitroselüloz kağıdından dikkatlice uzaklaştırılır, epitelyal yüzey yukarda olacak şekilde amniyon zarı alıcı bölgeye yerleştirilir, fazlalıklar eksize edilir, 10/0 naylon veya 9/0 vikril sütün ile episkleraya sütünre edilir (Resim 8 A). Kornea üzerindeki amniyon zarı eksize edilir, halka tarzında alınan limbal greft (yama tarzında da olabilir) limbusa yerleştirilir, 10/0 naylon veya 9/0 vikril sütün ile hem korneaya hem-de episkleraya sütünre edilir (Resim 8B).

Resim 8A ve 8B. Oküler yüzey rekonstrüksiyonunda amniyotik zar uygulaması



Cerrahi öncesi ve sonrası medikal tedavi

Cerrahi öncesi ağır enflamasyonu ve kuru gözü olan (Stevens-Johnson sendromu, oküler skatrisyel pemfigoid gibi) hastalarda gerekli tedaviler yapılmalıdır (dapson, steroid, tetrasiklin, prezervansız suni göz yaşı gibi). Cerrahi sonrasında ise amniyon zarının üzerine terapatik kontakt lens takılır, topikal %0.3 ofloksasin günde 4x1 damla, %0.1 deksametazon (betametazon veya prednizolon asetat) günde 6x1 damla başlanıp, 1-2 ay sonra %0.1 florometolona geçilebilir. Kuru gözlerde prezervansız damlalar tercih edilmeli, ihtiyaca göre sık aralarla suni gözyaşı damlatılmalıdır. Epitelizasyon sorunu varsa otolog serum kullanılabilir. Limbal yetersizliği olan kombine cerrahi geçirmiş (özellikle allogreftlerde) olgularda cerrahi sonrasında sistemik ve topikal immun supresif tedavi önemlidir. Sütürler genelde 3. hafta sonunda alınır (18,52,53,55).

Amniyon zarı transplantasyonunda sorunlar

Cerrahi öncesi enflamasyon ve kuru göz hali iyi tedavi edilmezse ilk 2 haftada erime meydana gelebilir. Ağır enflamasyonlu gözlerde (Stevens-Johnson sendromu,

oküler skatrisyel pemfigoid gibi) yetersiz medikal tedavi yapılırsa kollajenazlara bağlı 2.haftadan sonra zar nekrozu meydana gelebilir. Total kornea limbal disfonksiyonu veya otoimmün hastalıklarda tek başına amniyon zarı transplantasyonu etkili olmadığı için, kombine girişime ihtiyaç olduğu rapor edilmektedir (52).

Sonuç

Amniyon zarı transplantasyonu ile ilgili daha fazla kontrollü klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. Amniyon zarı transplantasyonu ile oküler yüzey başarılı bir şekilde yeniden yapılandırılabilmiştir. Yapılan çalışmalarda amniyon zarı vaskülarize ve konjonktivalize olmamıştır. Aksine alıcı kornea epitelizasyonu için iskelet görevi görmüştür. Amniyon zarı, HLA doku antijenitesinin de az olması nedeniyle rejeksiyon sorununu ortadan kaldırmıştır. Gelecekte amniyon zarı ile daha fazla moleküler ve klinik çalışmalar yapılarak, başka kullanım alanlarının da doğacağı inancındayız.

KAYNAKLAR

1. Davis JW: Skin transplantation with a review of 550 cases at the Johns Hopkins Hospital. Johns Hopkins Med J 1910; 15: 307.
2. Trelford JD, Trelford-Sauder M: The amnion in surgery, past and present. Am J Obstet Gynecol 1979;134:844-5.
3. Colucho G, Graham III WP, Green AE, et al: Human amniotic membrane as a physiologic wound dressing. Arch Surg 1974;109:307-3.
4. Faulk WP, Matthews RN, Stevens PJ, et al: Human amnion as an adjunct in wound healing. Lancet 1980;1156.
5. Prasad JK, Feller I, Thompson PD: Use of amnion for the treatment of Stevens-Johnson syndrome. J Trauma 1986;26:945-6.
6. Subrahmanyam M: Amniotic membrane as a cover for microskin grafts. Br J Plastic Surg 1995;48 :477-8.
7. Gruss JS, Jirsch DW: Human amniotic membrane: a versatile wound dressing. J Can Med Assoc 1978;118: 1237-46.
8. Ward DJ, Bennett JP: The long-term results of the use of human amnion in the treatment of leg ulcers. Br J Plastic Surg 1984;37:191-3.
9. Ward DJ, Bennett JP, Burgos H, et al: The healing of chronic venous leg ulcers with prepared human amnion. Br J Plastic Surg 1989;42:463-7.
10. Dhall K: Amnion graft for treatment of congenital absence of the vagina. Br J Obstet Gynaecol 1984;91:279-82.
11. Georgy MS, Aziz NL: Vaginoplasty using amnion graft: new surgical technique using the laparoscopic transillumination light. Br. J Obstet Gynaecol 1996;16:262-4.
12. Nisolle M, Donnez J: Vaginoplasty using amniotic membranes in cases of vaginal agenesis or after vaginectomy. J Gynecol Surg 1992; 8: 25-30.

13. Gharib M, Ure MB, Klose M: Use of amniotic grafts in the repair of gastroschisis. *Pediatr Surg Int* 1996; 11:96-9.
14. Rennekampff H-O, Dohrman P, Fory R, et al: Evaluation of amniotic membrane as adhesion prophylaxis in a novel surgical gastroschisis model. *Invest Surg* 1994;7:187-93.
15. Arora M, Jaroudi KA, Hamilton CJCM, et al: Controlled comparison of Interceed and amniotic membrane graft in the prevention of postoperative adhesions in the rabbit uterine horn model. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1994;55:179-82.
16. De Roth A: Plastic repair of conjunctival defects with fetal membrane. *Arch Ophthalmol* 1940;23:522-5
17. Bourne GL: The microscopic anatomy of the human amnion and chorion. *Am J Obstet Gynecol* 1960;79:1070-3
18. Juan Murube, MD, Hugh Taylor, MD, Kazuo Tsubota, MD: Amniotic membrane transplantation=A major contribution to ocular surface disease. *Highlights Of Ophthalmology* 2000;28:3-12
19. Sato H, Shimazaki J, Shimazaki N, et al: Role of growth factors for ocular surface reconstruction after amniotic membrane transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:S428
20. Kim JS, Park SW, Kim JH, et al: Temporary amniotic membrane graft promotes healing and inhibits protease activity in corneal wound induced by alkali burn in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:S90
21. Na BK, Hwang JH, Shin ES, et al: Analysis of human amniotic membrane components as proteinase inhibitors for development of therapeutic agent of recalcitrant keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:S90
22. Hao Y, Ma DHK, Hwang DG, et al: Identification of anti-angiogenic and antiinflammatory proteins in human amniotic membrane. *Cornea* 2000;19:348-52
23. Terranova VP, Lyall RM: Hemotaxis of human gingival epithelial cells to laminin : a mechanism for epithelial cell apical migration. *J Periodontol* 1986;57:311-7
24. Khodadoust AA, Silverstein AM, Kenyon KR, Dowling JE: Adhesion of regenerating corneal epithelium: the role of basement membrane. *Am J Ophthalmology* 1968;65:339-48
25. Lee SH, Tseng SCG: Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. *Am J Ophthalmol* 1997;123:303-12
26. Tseng SCG, Prabhasawat P, Barton K, et al: Amniotic membrane transplantation with or without limbal allografts for corneal surface reconstruction in patients with limbal stem cell deficiency. *Arch Ophthalmol* 1998;116:431-41
27. Shimazaki J, Yang H-Y, Tsubota K: Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in patients with chemical and thermal burns. *Ophthalmology* 1997;104:2068-76
28. Tseng SCG, Li D-Q, Ma X. Down-regulation of TGF- β 1, β 2, β 3 and TGG- β receptor II expression in human corneal fibroblasts by amniotic membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:S428
29. 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
30. Tseng SCG, Prabhasawat P, Lee S-H: Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. *Am J Ophthalmol* 1997;124:765-74
31. Ma DHK, See L-C, Liao S-B, Tsai RJH: Amniotic membrane graft for primary pterygium: comparison with conjunctival autograft and topical mitomycin C treatment. *Br J Ophthalmol* 2000;84:973-978
32. Wang M, Gray T, Prabhasawat P, et al: Corneal haze is reduced by amniotic membrane matrix in excimer laser photoablation in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:S405
33. Sao-Bing Lee, De-quan Li, Donald T.H. Tan, et al: Suppression of TGF- β signaling in both normal conjunctival fibroblasts and pterygial body fibroblasts by amniotic membrane. *Current Eye Research* 2000;20:325-334
34. Tseng SCG, Li D-Q, Ma X: Suppression of TGF- β 1, β 2, β 3 and TGG- β receptor II expression and myofibroblast differentiation in human corneal and limbal fibroblasts by amniotic membrane matrix. *J Cell Physiol* 1999; 179:325-35
35. Foster CS, Shore JW, Rubin PA, et al: Long-term results of mucous membrane grafting in ocular cicatricial pemp-higoid. Implications for patient selection and surgical considerations. *Ophthalmology* 1993;100:1283-8
36. Franch A, Rama P, Lambiasi A, et al: Human amniotic membrane transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:S90
37. 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;117-34
38. Choi YS, Kim JY, Wee WR, et al: Effect of the application of human amniotic membrane on rabbit corneal wound healing after excimer laser photorefractive keratectomy. *Cornea* 1998;17:389-95
39. Talmi YP, Sigler L, Inge E, et al: Antibacterial properties of human amniotic membranes. *Placenta* 1994;12:285-8
40. Boudreau N, Sympton CJ, Werb Z, Bissel MJ: Suppression of ICE and apoptosis in mammary epithelial cells by extracellular matrix. *Science* 1995;267:891-3
41. Meller D, Pires RTF, Tseng SCG: Ex vivo preservation and expansion of human limbal epithelial progenitor cells by amniotic membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40:S329
42. Harminder S Dua, Augusto Azuara-Blanco. Amniotic membrane transplantation. *Br J Ophthalmol* 1999;83:748-52
43. Kim JC, Tseng SCG: Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit corneas. *Cornea* 1995;14:473-84
44. Tsubota K, Satake Y, Ohyama M, et al: Surgical reconstruction of the ocular surface in advanced ocular cicatricial

pemphigoid and stevens-johnson syndrome. *Am J Ophthalmol* 1996;122:38-52

45. Azuara-Blanco A, Pillai CT, Dua HS: Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction. *Br J Ophthalmol* 1999;83:399-402

46. Budenz DL, Barton K, Tseng SCG: Repair of leaking glaucoma filtering blebs using preserved human amniotic membrane graft. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:S941

47. Budenz DL, Barton K, Tseng SCG: Amniotic membrane transplantation for repair of leaking glaucoma filtering blebs. *Am J Ophthalmology* 2000;130:580-8.

48. Fujishima H, Shimazaki J, Shinozaki N, et al: Trabeculectomy with the use of amniotic membrane for uncontrolable glaucoma. *Ophthalmic Surg Lasers* 1998;29:428-31.

49. Choi YS, Kim JY, Wee WR, et al: Application of amniotic membrane on corneal wound healing after excimer laser PRK. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:S536

50. Meller D, Maskin SL, Pires RTF, Tseng SCG: Amniotic membrane transplantation for symptomatic conjunctivochalasis refractory to medical treatments. *Cornea* 2000;19:796-803.

51. Koizumi N, Inatomi T, et al: Amniotic membrane as a substrate for cultivating limbal corneal epithelial cells for autologous transplantation in rabbits. *Cornea* 2000;19:65-71

52. Hanada K, Shimazaki J, Shimmura S, Tsubota K: Multi-layer amniotic membrane transplantation for severe ulceration of the cornea and sclera. *Am J Ophthalmology* 2001;131:324-31

53. Sridhar MS, Bansal AK, et al: Amniotic membrane transplantation in acute chemical and thermal injury. *Am J Ophthalmology* 2000;130:134-7

54. Pires RTF, Chokshi A, Tseng SCG: Amniotic membrane transplantation or conjunctival limbal autograft for limbal stem cell deficiency induced by 5-fluorouracil in glaucoma surgeries. *Cornea* 2000;19:284-7

55. Anderson DF, Ellies P, Pires RTF, Tseng SCG: Amniotic membrane transplantation for partial limbal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol* 2001;85:567-75

56. Chen H-J, Pires RTF, Tseng SCG: Amniotic membrane transplantation for severe neurotrophic corneal ulcers. *Br J Ophthalmol* 2000;84:826-33.

57. Mejia LF, Acosta C, Santamaria JP: Use of nonpreserved human amniotic membrane for the reconstruction of the ocular surface. *Cornea* 2000;19:288-291