

**CRISLAINE CAROLINE SERPE
LAURINDA MENEGUETTE**

**TRANSPLANTE DE MEMBRANA AMNIÓTICA
EM UM SERVIÇO PÚBLICO UNIVERSITÁRIO
DE OFTALMOLOGIA**

**Trabalho apresentado para
conclusão de Especialização em
Transplante de Córnea – UFPR
Orientador: Dr. Márcio Zapparoli**

**CURITIBA
2012**

RESUMO

OBJETIVO: Analisar as principais indicações do transplante de membrana amniótica (MA) no serviço de Oftalmologia do Hospital de Clínicas do Paraná, bem como seus resultados e alguns dados epidemiológicos. **MÉTODOS:** Foram analisados, retrospectivamente, os prontuários de 38 pacientes, totalizando 53 procedimentos, no período de janeiro de 2005 à janeiro de 2012, em que foi realizado transplante de membrana amniótica simples ou combinado com transplante limbar. Foram também avaliados sintomas e a AV subjetiva pré e pós-operatória. **RESULTADOS:** Dos 53 procedimentos realizados, as indicações mais frequentes foram: queimadura química 35,84% (n=19), em que 83,81% foram submetidos ao tratamento combinado de transplante limbar e transplante de MA. Observou-se melhora da acuidade visual em 42,12% (n=8). A segunda causa mais comum foi ceratopatia bolhosa 30,18% (n=16), em que apenas o transplante de MA foi realizado, e a AV permaneceu inalterada em 81,15% (n=13). A terceira causa foi pterígio 18,86% (n=10), em que a melhora da AV foi observada em 70% (n=7). Já em quarto lugar foi a Síndrome de Stevens Johnson 9,43% (n=5) em que o transplante isolado de MA manteve a AV inalterada em 80% (n=4); e, por último, encontramos a ceratite, a desepitelização e a úlcera de cornea, 5,69 (n=3), em que optou-se pelo transplante isolado de MA e obteve-se AV inalterada em 66,67% (n=2) dos casos. **CONCLUSÃO:** Pode-se observar a ótima eficácia do transplante de membrana amniótica quanto a melhora dos sintomas de dor e sensação de corpo estranho e a contenção e/ou correção de sequelas devidas à outras doenças ou procedimentos cirúrgicos oftalmológicos. Quanto a AV, observou-se seu maior resultado na manutenção da AV pré-operatória, semelhante ao encontrado na literatura atual. E, por fim, seu baixo custo e risco de complicações.

ABSTRACT

OBJECTIVE: With the increasingly use of amniotic membrane transplantation (MA) for treatment of eye diseases, this study aims to verify the most frequently indications as well as the results of patients undergoing this procedure in Hospital de Clinicas do Paraná, an university public ophthalmology center. **METHODS:** Data of 38 patients who had done AM transplantation from January 2005 to January 2012 were retrospectively analysed, totalizing 53 procedures, regarding the indications and postoperative results. **RESULTS:** The indications for AM transplantation in this service was chemical burning 35.84% (n = 19), in wich 83.81% underwent combined treatment of limbal and MA transplantation and there was an improvement of VA in 42.12% (n = 8). The second most common cause was bullous keratopathy, 30.18% (n = 16), in witch all patients underwent isolated procedure of MA transplantation and vision remained unchanged in 81.15% (n = 13). Pterygium was 18.86% (n = 10) and VA improvement was observed in 70% (n = 7). Stevens-Johnson syndrome 9.43% (n = 5) with isolate MA transplantation we observed VA improvement in 80% (n = 4). At least, keratitis, corneal ulcer with 5.69 (n = 3), where we chose isolate MA transplantation, with unchanged AV in 66.67 % (n = 2). **CONCLUSION:** AM transplantation showed poor results at VA improvement; however, presented excellent results for the improvement of the symptoms of pain and foreign body sensation and contention and / or correction of sequelae due to other diseases or surgical ophthalmological procedures.

1. INTRODUÇÃO

A membrana amniótica foi primeiramente utilizada em 1940 para tratamento de defeito conjuntival⁽¹⁾. Desde então, vem sendo cada vez mais utilizada, tendo um amplo leque de indicações.

Histologicamente possui 3 camadas: epitelial, estromal e uma fina membrana basal. É capaz de facilitar a adesão e migração de células epiteliais basais, prevenir a apoptose celular e a neovascularização, restaurar o fenótipo epitelial, sem esquecer de sua ação cicatricial, antiinflamatória, anti-adesiva e antimicrobiana.

É imunologicamente inerte, pois não expressa antígenos de histocompatibilidade (HLA-A,B ou DR)^(1, 2, 3) e produz vários fatores de crescimento, entre eles fator de crescimento basal de fibroblasto, fator de crescimento de hepatócito e fator de crescimento de transformação beta, todos capazes de modular a proliferação e a diferenciação de células corneanas e conjuntivais^(1,4).

Atualmente, dentre as várias aplicações e tratamentos, citam-se: defeito epitelial persistente e defeitos conjuntivais, úlceras corneanas, pterígio, deficiência limbar, queimaduras oculares, dentre outras, sendo mais recentemente utilizada como substrato para cultivo de células limbares ex vivo.

Este trabalho tem como objetivo descrever as diversas e mais freqüentes indicações do transplante de membrana amniótica em um serviço universitário público, bem como analisar seus resultados. Foram avaliados complementarmente nesse estudo alguns dados epidemiológicos como a procedência dos pacientes, tratando-se de um hospital referência, a faixa etária, as principais queixas pré e pós-

operatórias, comparação da acuidade visual pré e pós-operatória e, principalmente, se o objetivo da cirurgia foi obtido ao final do acompanhamento pós-operatório, dentro do aspecto de cada indicação.

2. PACIENTES E MÉTODOS

Este trabalho trata-se de um estudo analítico e retrospectivo, em que foram analisados 38 prontuários de pacientes submetidos a transplante de MA no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, no período de janeiro de 2005 a janeiro de 2012, totalizando 53 procedimentos cirúrgicos.

Foram excluídos os prontuários em que os dados utilizados na pesquisa não estavam completos, prontuários que não foram localizados pelo arquivo do hospital, ou por perda de acompanhamento ambulatorial do paciente.

Após autorização da parturiente através de termo de consentimento livre e esclarecido, a membrana amniótica foi obtida de placentas provenientes de cesáreas eletivas de pacientes do mesmo Hospital. Todas essas pacientes foram submetidas a análise laboratorial para as seguintes doenças: HIV, Hepatites B e C e sífilis, sorologias essas reconfirmadas pela análise do sangue do cordão umbilical após o parto. Em casos de qualquer sorologia positiva, o tecido era descartado.

A placenta foi lavada com soro fisiológico 0,9% e preservada em solução diluída de gentamicina durante o intervalo de nascimento até sua preparação definitiva, intervalo este nunca superior a 6

horas. A MA foi preparada no próprio centro cirúrgico obstétrico em ambiente estéril. Após sua completa dissecação da placenta, A MA foi então estendida em papel filtro de nitrocelulose estéril de aproximadamente 10x4 centímetros de tamanho, com a face epitelial voltada para cima. Foi colocada em um frasco estéril contendo glicerol e meio de preservação de córnea TC-199 na proporção 1:1 e mantida congelada em freezer específico a menos 80 graus Celsius e refrigerada a 4 graus Celsius. Seu tempo máximo de utilização foi de 6 meses quando congeladas.

As cirurgias foram realizadas por médicos residentes do quarto ano de residência do Setor de Córnea do Hospital de Clínicas. Para a fixação da MA, foram utilizados diferentes tipos de fios de acordo com a indicação do transplante de MA, com pontos simples ou contínuos, sendo os fios nylon 10.0 e vicryl 8.0 os fios mais utilizados, e a sutura contínua, a técnica mais utilizada. Em todas as cirurgias optou-se pela face epitelial voltada para cima e, na sua maioria, por uma camada única de MA.

Nos casos de defeito epitelial persistente após queimadura química, realizou-se transplante combinado de células limbares. Quando utilizada em procedimentos corneanos, houve uma prévia desepitelização corneana para melhor aderência da MA, tomando-se o devido cuidado para evitar resquícios de sangue ou fragmentos teciduais na interface córnea - MA.

Lente de contato terapêutica foi utilizada independente da indicação. As suturas foram, em todos os casos, removidas no pós-operatório tardio, após completa absorção da MA, numa média de 3 meses. O acompanhamento pós-operatório foi realizado da mesma forma para todas as diferentes indicações, com avaliações no

primeiro, sétimo, trigésimo dias e 2 meses da cirurgia. Colírios de antibiótico e corticosteróide foram utilizados até a completa epitelização e melhora da inflamação, numa frequência de 4 em 4 horas na primeira semana e de 6 em 6 horas durante as próximas 2 semanas.

Imunossuppressores orais foram apenas utilizados nos casos de associação com transplantes limbares heterólogos ou cadavéricos, sendo a ciclosporina o mais utilizado numa dose de 10 a 15mg/Kg/dia e regulada de acordo com valores de ciclosporinemias, inicialmente mensais e, após os 3 primeiros meses, trimestrais, juntamente com um acompanhamento de um clínico quanto a sua toxicidade sistêmica.

Foram avaliados também neste estudo, dados epidemiológicos referentes aos pacientes submetidos ao transplante de MA, como a procedência dos pacientes, faixa etária, principais queixas pré e pós-operatórias, comparação da acuidade visual subjetiva pré e pós-operatória e, principalmente, se o objetivo da cirurgia foi obtido ao final do acompanhamento pós-operatório, dentro do aspecto de cada indicação.

3. RESULTADOS

No serviço de Oftalmologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, foram analisados 38 prontuários de pacientes submetidos a transplante de membrana amniótica, totalizando 53 procedimentos.

O procedimento isolado de transplante de membrana amniótica foi o realizado em 54,73% (n=29), seguido pelo método combinado de transplante de limbo associado ao uso de membrana amniótica em 20,75% (n=11).

Após o procedimento cirúrgico, a acuidade visual foi melhorada em 33,96% (n=18), permaneceu inalterada em 45,29% (n=24) e observou-se piora em 20,75% (n=11), sendo que nestes casos em que houve piora da acuidade visual, a grande maioria dos pacientes apresentava como indicação cirúrgica queimadura química ocular, correspondendo a 77,77% (n=7) dos olhos afetados.

A principal etiologia base encontrada foi queimadura química 35,84% (n=19), seguida de ceratopatia bolhosa 30,18% (n=16), pterígio 18,86% (n=10), Síndrome de Stevens- Johnson 9,43% (n=5) e ceratite, desepitelização persistente e úlcera em 5,69% (n=3).

Nos procedimentos realizados devido a queimadura química, o maior grupo atingido foi do sexo masculino 42,11% (n=11), idade entre 20-40 anos 47,47% (n=9) e o agente etiológico causador do dano ocular mais comum foi o cal em 73,69% (n=14). Nestes olhos, o procedimento indicado com maior frequência foi o transplante limbar do olho contralateral associado ao uso de membrana amniótica em 83,81% (n=10) e em somente 31,57% (n=6) foi realizado recobrimento simples com membrana amniótica. Destes, 36,85% dos pacientes (n=7) tinham histórico positivo de procedimentos oftalmológicos prévios no olho afetado. Com o acompanhamento ambulatorial pós-operatório, verificou-se melhora da acuidade visual em 42,12% (n=8) dos olhos, a visão permaneceu mantida em 21,05 (n=4) e observou-se piora em 36,83% (n=7). Em

nenhum caso, a MA foi utilizada na fase aguda da queimadura ocular e sim apenas na fase crônica após transplante limbar.

Nos 16 olhos em que foram submetidos ao tratamento cirúrgico por ceratopatia bolhosa, 68,75% (n=11) eram do sexo feminino, idade entre 60-80 anos 62,5% (n=10) e 93,75% (n=15) apresentavam história prévia de procedimento cirúrgico ocular, sendo a cirurgia de catarata a mais comum 86,66% (n=13). Neste grupo, optou-se pelo recobrimento da superfície ocular com membrana amniótica para proporcionar alívio dos sinais e sintomas típicos da ceratopatia bolhosa, principalmente dor e sensação de corpo estranho. A acuidade visual permaneceu inalterada na maioria dos casos 81,15% (n=13).

Nos 10 olhos que apresentavam o pterígio como causa base do transplante de membrana amniótica, durante a cirurgia foi associado o uso de mitomicina a 0,05%, sendo estes pacientes 80% (n=8) do sexo masculino, 60% (n=6) com idade entre 40-60 anos e 70% (n=7) não haviam sido submetidos a qualquer procedimento cirúrgico ocular prévio. Após realização de cirurgia e acompanhamento clínico, observou-se melhora da acuidade visual em 70% (n=7), e piora em 20% (n=2).

Nos pacientes com Síndrome de Stevens-Johnson, foram realizados 5 procedimentos cirúrgicos, sendo 100% (n=5) em pacientes do sexo feminino e 80% (n=4) com idade entre 20-40 anos. Nestes pacientes, foi optado por realizar recobrimentos simples com membrana amniótica em 60% (n=3), transplante limbar associado ao uso de membrana amniótica em 20% (n=1) e nos 20% restantes (n=1), a membrana amniótica foi utilizada para correção cirúrgica de simbléfaro. A acuidade visual final permaneceu inalterada em 80%

(n=4) e houve melhora da mesma em 20% (n=1). Todos os casos foram realizados na fase crônica da doença.

Nos casos de ceratite, desepitelização persistente e úlcera corneana, os pacientes estavam, em sua maioria, localizados na faixa etária de 40-60 anos - 66,67% (n=2) - e todos foram submetidos a recobrimento simples com membrana amniótica. Não se observou piora da acuidade visual nestes pacientes, sendo que a visão permaneceu inalterada após o procedimento em 66,67% (n=2).

Dos 53 procedimentos realizados, 24,55% (n=13) foi realizado no ano de 2009, a prevalência foi maior no sexo feminino em 54,71% (n=29), idade na faixa de 40-60 anos em 33,96% (n=18), história positiva de procedimentos oculares prévios em 56,60% (n=30) e procedência fora de Curitiba e Região metropolitana em 50,96% (n=27) dos casos.

Não foram observadas complicações per ou pós-operatórias durante todo o período de seguimento dos pacientes.

4. DISCUSSÃO

Os mecanismos fisiológicos pelos quais a MA age estão em permanente estudo. Há evidências de que atue modulando os níveis das citocinas, fatores de crescimento, enzimas e receptores locais. Acredita-se que a preservação a menos 80 graus Celsius contribua para uma diminuição nos seus níveis de fatores de crescimento^(4,5).

O armazenamento em meios com 50 a 85 % de glicerol são confiáveis e efetivos por mais de um ano com a vantagem das propriedades antibacterianas⁽⁷⁾. Como podemos observar, o

transplante de MA pode ser uma excelente alternativa para diversas patologias, com uma alta efetividade e uma baixa taxa de complicações se obedecidas suas condições de preservação e manuseio.

Como facilitador de epitelização, pode atuar como substrato basal, facilitando a migração de células epiteliais limbares⁽⁸⁾, reforçando a adesão do epitélio à camada basal^(9,10), promovendo a diferenciação celular^(11,12) e prevenindo a apoptose celular^(13,14). Pode ainda simplesmente atuar como protetor mecânico ao atrito palpebral^(15,16) e às células inflamatórias e proteínas do filme lacrimal. Defeitos epiteliais persistentes, úlceras neurotróficas, algumas distrofias epiteliais ou da membrana basal e ceratopatia bolhosa são alguns exemplos beneficiados com estas suas funções.

Como inibidor de neovascularização ou fibrose, podemos citar o pterígio, as cirurgias reconstrutoras de fórnices, a conjuntivocálase, a deficiência limbar, entre outras.

No presente estudo, observamos que as principais indicações da MA foram: queimaduras químicas, pterígio, Stevens Johnson, ceratites e úlceras corneanas, ceratopatia bolhosa, deficiência de células germinativas limbares ou defeitos de epitelização persistentes. Acreditamos que a maior freqüência das queimaduras químicas e ceratopatia bolhosa se devam, sobretudo, ao fato do Hospital de Clínicas ser referência no tratamento das queimaduras oculares e, já quanto a ceratopatia bolhosa, pelo crescente aumento da facoemulsificação em um serviço universitário com serviço de residência em Oftalmologia. A pequena amostra de pacientes submetidos a transplante de membrana amniótica por ceratopatia bolhosa em nosso serviço deve-se em grande parte à inexistência de

fila de espera para a realização do transplante corneano, optando-se assim primariamente pelo transplante de córnea ao invés do transplante de membrana amniótica, na tentativa de melhorar a acuidade visual secundariamente ao alívio da dor.

A faixa etária concentrou-se dos 20 aos 60 anos de idade, salientando-se a importância do procedimento na idade ativa da população. Dentre as diversas técnicas e associações cirúrgicas, a realização do transplante de MA puro foi a técnica mais utilizada neste Hospital, predizendo um procedimento barato e de fácil realização.

Observa-se que na maioria dos casos outro procedimento cirúrgico já havia sido realizado previamente ao transplante de MA, como por exemplo a facoemulsificação nos casos de ceratopatia bolhosa ou as diversas cirurgias de contenção de danos nos casos de Stevens-Johnson.

Quando analisada a acuidade visual, percebeu-se que os objetivos do transplante de MA são pouco relacionados à melhora visual, focando mais no alívio da dor e contenção e ou correção de seqüelas a outras doenças ou procedimentos cirúrgicos prévios. Observa-se que a acuidade visual manteve-se inalterada na maioria dos casos e teve uma melhora nos casos de queimadura ocular. A eficácia, por exemplo, da MA na ceratopatia bolhosa foi estudada apenas como tratamento paliativo da dor nos casos com baixo prognóstico visual^(12,14). Pode ainda ser considerada como um método temporário para aqueles que encontram-se na fila de espera para o transplante de córnea ou aqueles intolerantes ao uso de lentes de contato terapêuticas. No entanto, alívio prolongado precisa ser mais estudado e comparado com outras formas de tratamento. Em

nosso estudo, o transplante de MA trouxe melhora dos sintomas de dor e sensação de corpo estranho na grande maioria dos casos até o término do período avaliado.

A MA tem apresentado excelente resultado nos casos de queimadura química em que há parcial ou total dano à região limbar⁽¹⁷⁾. Na fase aguda, pode ser utilizada com o objetivo de amenizar a inflamação local, promover a rápida epitelização e diminuir a dor⁽¹⁸⁾. E na fase crônica, reconstruindo a superfície ocular e evitando seqüelas mais graves, como simbléfaro^(17,19).

Doenças da superfície ocular importantes como Steven-Johnson, pênfigo ocular cicatricial e queimaduras oculares térmicas ou químicas se beneficiam, principalmente, de sua ação antiinflamatória, obtendo melhores resultados quando uma melhor função lacrimal é presente.

Tseng et al.⁽²⁰⁾ sugerem o uso de membrana amniótica para reconstrução da superfície conjuntival, tendo maior sucesso na presença de tecido conjuntival sadio remanescente e extensa área corneana sem deficiência de células germinativas limbares.

A MA apresenta boa alternativa no tratamento cirúrgico do pterígio, especialmente nos pterígios primários, em que sua taxa de recorrência é significativamente menor se comparado com fechamento primário⁽²¹⁾ e transplante conjuntival. Sugere-se seu uso naqueles casos com envolvimento conjuntival difuso (pterígio nasal e temporal) ou quando se deseja preservar a conjuntiva bulbar para uma futura cirurgia filtrante glaucomatosa⁽²¹⁾. Ma et al.⁽²²⁾ observou a eficácia e segurança do transplante de MA como terapia adjuvante após exérese de pterígio primário comparado com enxerto conjuntival e mitomicina tópica, notando-se ausência de diferença

significante na taxa de recorrência entre esses 3 grupos. No presente estudo, a utilização de MA foi realizada apenas no tratamento cirúrgico de pterígios recidivados, uma rotina do Hospital, e nunca primários e, na sua maioria (70%) associados com mitomicina tópica a 0,02% per operatória. Observou-se uma importante melhora da acuidade visual nestes pacientes. Há uma importante associação do pterígio com exposição crônica a radiação solar, suportada pela maior incidência em regiões peri equatoriais⁽²³⁾. Encontramos em nosso estudo a principal incidência nas cidades do interior do Estado, onde há uma maior parcela da população na zona rural, em maior exposição às radiações ultravioletas dos tipos A e B.

O transplante de MA pode ser considerado um tratamento efetivo para as úlceras neurotróficas, perfurações de córnea não-traumáticas e descemetocèles^(24,25). Pode funcionar definitivamente ou temporariamente até que um procedimento cirúrgico definitivo seja realizado. Chen et al.⁽²⁴⁾ observou cicatrização de úlcera neurotrófica grave após transplante de MA em 76,4% em 16.6 dias de pós-operatório.

O efeito da MA na ceratopatia bolhosa é atribuído a adesão de um novo substrato composto pela membrana basal e matriz estromal avascular, além de suas propriedades estimuladoras de epitelização e moduladoras de processos cicatriciais e inflamatórios, atuando sobretudo no alívio da dor⁽²⁶⁾.

A incidência de infecção pós-operatória é menor que 1,6%⁽²⁷⁾. Não foram observados sinais de infecção em nenhum momento no presente estudo, mostrando-se um método seguro. Reforça-se a importância da seleção meticulosa tanto do doador quanto do receptor e a manutenção da assepsia durante todo o

acompanhamento per e pós-operatório. Organismos Gram-positivos são os mais frequentemente isolados⁽²⁸⁾.

Assim como em outros trabalhos, apesar de parecer promissora, são comuns as recorrências com a necessidade de reaplicação da MA⁽²⁹⁾.

5. CONCLUSÃO

Não há dúvidas de que o transplante de MA conquistou uma posição importante nas cirurgias de superfície ocular. Isto se deve principalmente a relativa facilidade do procedimento e sua isenção de intervenção intraocular e do uso de imunossuppressores, com uma taxa extremamente baixa de complicações per ou pós-operatórias.

Aqui pode-se observar seu leque de indicações em um Hospital Universitário público e sua alta taxa de efetividade e baixa taxa de complicações.

Vem se investindo cada vez mais para uma melhora da obtenção do tecido e na sua técnica cirúrgica. No entanto, há ainda uma falta de evidências baseada em estudos randomizados para provar os benefícios do transplante de MA comparado a outras modalidades de tratamento⁽³⁰⁾.

Esta técnica pode ser considerada uma boa alternativa terapêutica em várias situações, além de ser um método barato e de fácil execução cirúrgica, reforçando seu uso em instituições públicas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. 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(3):235-40.
2. Adinolfi M, Akle CA, McColl I, et al. Expression of HLA antigens, beta 2-microglobulin and enzymes by human amniotic epithelial cells. *Nature* 1982.295:325-327.
3. Akle CA, Adinolfi M, Welsh KI, et al. Immunogenicity of human amniotic epithelial cells after transplantation into volunteers. *Lancet* 1981, 2:1003-1005.
4. Trelford JD, Trelford-Sauder M. The amnion in surgery, past and present. *AM J Obstet Gynecol* 1979;134(7):833-45
5. 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.
6. 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.
7. Maral T, Borman H, Arslan H, Demirhan B, Akinbingol G, Haberal M. Effectiveness of human amnion preserved long-term in glycerol as a temporary biological dressing. *Burns* 1999;25:625-35.
8. Terranova VP, Lyall RM: Chemotaxis of human gingival epithelial cells to laminin. A mechanism for epithelial cell apical migration. *J Periodontol* 1986,57:311-317.
9. Sonnenberg A, Calafat J, Janssen H, et al. Integrin alpha 6/beta 4 complex is located in hemidesmosomes, suggesting a major role in epidermal cell-basement membrane adesion. *J Cell Biol* 1991, 113:907-917.
10. Khodadoust AA, Silverstein AM, Kenyon DR, et al. Adhesion of regenerating corneal epithelium. The role of basement membrane. *AM J Ophthalmol* 1968, 65:339-348.
11. Barcellos-Hoff MH, Aggeler J, Ram TG, et al. Functional differentiation and alveolar morphogenesis of primary mammary cultures on reconstituted basement membrane. *Development* 1989, 105:223-235.

12. Meller D, Tseng SC. Conjunctival epithelial cell differentiation on amniotic membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999, 40:878-886.
13. Boudreau N, Simpson CJ, Werb Z, et al. Suppression of ICE and apoptosis in mammary epithelial cells by extracellular matrix. *Science* 1995, 267:891-893.
14. 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, 93:3509-3513.
15. Letko E, Stechschulte SU, Kenyon KR, et al. Amniotic membrane inlay and overlay grafting for corneal epithelial defects and stromal ulcers. *Arch Ophthalmol* 2001, 119:659-663.
16. Azuara-Blanco A, Pillai CT, Dua HS. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction. *BR J Ophthalmol* 1999, 83:399-402.
17. Tseng SC, Prabhasawat P, Lee SH. Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. *AM J Ophthalmol* 1997;124(6):765-74.
18. Meller D, Pires RT, Mack RJ, Figueiredo F, Heiligenhaus A, Park WC, et al. Amniotic membrane transplantation for acute chemical or thermal Burns. *Ophthalmology* 2000 May 107(5):980-9; discussion 990.
19. Pires RTF, Pires JLT, Tseng SCG. Transplante de membrana amniótica para reconstrução da superfície corneana e conjuntival. *Arq Bras Pftalmol* 1999;62(3):340-50.
20. Tseng SC, Prabhasawat P, Barton K, Gray T, Meller D. Amniotic membrane transplantation with or without limbal allografts for corneal surface reconstruction in patients with limbal stem cell deficiency. *Arch Ophthalmol* 1998;116(4):431-41.
21. Prabhasawat P, Barton K, Burkett G, Tseng SC. Comparison of conjunctival autografts, amniotic membrane grafts and primary closure for pterygium excision. *Ophthalmology* 1997;104(6):974-85.
22. Ma DH, See LC, Liao SB, Tsai RJ. Amniotic membrane graft for primary pterygium: comparison with conjunctival autograft and topical mitomycin C treatment. *BR J Ophtahmol* 2000;84(9):973-8.
23. Moran DJ, Hollows FC. Pterygium and ultraviolet radiation: a positive correlation. *Br J Ophthalmol* 68(5):343-346.

24. Chen HJ, Pires RT, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for severe neutrotrophic corneal ulcers. *BR J Ophthalmol* 2000;84:826-33.
25. Solomon A, Meller D, Prabhasawat P, John T, Espana EM, Steuhl KP, et al. Amniotic membrane grafts for non traumatic corneal perforations, descemetocelles and deep ulcers. *Ophthalmology* 2002;109:694-703.
26. Pires RT, Tseng SC, Parabhasawat P, Puan gsricharern V, Maskim SL, Kim JC, Tan DT. Amniotic membrane transplantation for symptomatic bullous keratopathy. *Arch Ophthalmol* 1999;117(10):1291-7.
27. Marangon FB, Alfonso EC, Miller D, Remonda NM, Marcus S, Tseng SC. Incidence of microbial infection after amniotic membrane transplantation. *Córnea* 2004;23:264-9.
28. Khokhar S, Sharma N, Kumar H, Soni A. Infection after use of nonpreserved human amniotic membrane for the reconstruction of the ocular surface. *Córnea* 2001;20:773-4.
29. Oliveira EC, Ramos GZ, Afonso VCC, Souza LB. Estudo retrospectivo da utilização do transplante de membrana amniótica em um serviço terciário de Oftalmologia. *Rev Bras Oftalmol.* 2008; 67(4):167-71.
30. Kenyon KR. Amniotic membrane; Mother's own remedy for ocular surface diseases. *Córnea* 2005;24:639-42.

COLABORADORES

Augusto Felipe Bruchez Brito¹, Bener Augusto Souza Milani¹

¹ Estagiários do serviço de Oftalmologia do Hospital de Clínicas - Universidade Federal do Paraná – Curitiba (PR), Brasil;