

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
ESPECIALIZAÇÃO EM OFTALMOLOGIA

NAYARA TEIXEIRA FLÜGEL

**TRANSPLANTE DE MEMBRANA AMNIÓTICA EM DOENÇAS
DA SUPERFÍCIE OCULAR**

Curitiba (PR), 2020

NAYARA TEIXEIRA FLÜGEL

**TRANSPLANTE DE MEMBRANA AMNIÓTICA EM DOENÇAS
DA SUPERFÍCIE OCULAR**

Projeto de pesquisa apresentado
como requisito para a obtenção de
créditos da Disciplina de Trabalho de
Conclusão de Curso da
Especialização em oftalmologia na
Universidade Federal do Paraná
(UFPR).

Orientador: Dr. Daniel Wasilewski

Curitiba (PR), 2020

SUMÁRIO:

1) RESUMO -----	04
2) INTRODUÇÃO -----	05
3) MÉTODOS -----	06
4) RESULTADOS -----	08
5) DISCUSSÃO -----	11
6) CONCLUSÃO -----	15
7) FOTOS -----	16
8) REFERÊNCIAS -----	17

1) RESUMO:

OBJETIVO: Avaliar a eficácia clínica do transplante de membrana amniótica na reconstrução da superfície ocular.

MÉTODOS: Estudo prospectivo incluiu 23 olhos de 21 pacientes que realizaram transplante de membrana amniótica no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR) e na clínica de Cirurgia e Diagnóstico em Oftalmologia do Paraná (CDOP), localizados em Curitiba-PR-Brasil, no período de maio de 2015 a julho de 2019. A membrana amniótica foi captada a partir de parto cesárea eletivo e a termo, conservada em meio de preservação e glicerol 1:1 e armazenada a -80° Celsius. A membrana foi fixada na superfície ocular com fio nylon 10-0 ou vicryl 8-0 e/ou cola biológica.

RESULTADOS: A idade dos pacientes variou de 11-82 anos, com média de 37,4 anos. Houve maior incidência no sexo masculino (66,6%). Ocorreu diferença na distribuição do olho acometido (maior no olho direito – 65,2%). Quanto à história de cirurgia oftalmológica prévia, 12 dos 23 olhos tinham história positiva (52,2%). Observamos que nos pacientes em que foi possível a avaliação da acuidade visual pré-operatória, todos apresentaram melhora ou manutenção da acuidade visual. No pós-operatório foi observado complicações associadas à doença de base e não propriamente ao transplante de membrana amniótica. Não foram registrados casos de infecção pós-operatória.

CONCLUSÃO: Houve dos casos em que o transplante foi realizado. Portanto, a membrana amniótica pode ser considerada uma boa alternativa para a reconstrução da superfície ocular, como tratamento isolado ou coadjuvante.

PALAVRAS CHAVE: Âmnio; Curativos biológicos; Transplante; Lesões oculares; Segmento anterior do olho.

2) INTRODUÇÃO:

A superfície ocular é uma estrutura extremamente sensível e dinâmica, sendo inúmeros os processos celulares que mantêm a sua integridade. Qualquer agressão (química, térmica ou mecânica) induz processos de fibrose, aumento da permeabilidade vascular, exsudação, depósitos de lipídeos, entre outros, provocando uma disfunção anatômica e fisiológica do olho como um todo^{1,2,3}.

Vários tecidos biológicos têm sido utilizados como doadores para reparo ou diminuição da inflamação, nos casos em que a córnea e a conjuntiva estão seriamente afetados. A membrana amniótica (MA) humana é utilizada em cirurgia desde o início do século XX, embora o seu uso em oftalmologia seja relativamente recente. A MA, parte interna da placenta, é uma membrana translúcida e viscoelástica, constituída por um conjunto de cinco camadas, onde se destacam a camada epitelial, uma membrana basal espessa e uma matriz extracelular estromal avascular. Não é vascularizada e nem apresenta suprimento sanguíneo direto^{2,4}.

O transplante da MA tem se consolidado como adjuvante no tratamento de afecções da superfície ocular. Sua utilização baseia-se na capacidade de beneficiar o processo de epitelização, além de reduzir os processos inflamatório, angiogênico e cicatricial¹⁻²⁴.

Existem relatos documentados na literatura de que a MA atua modulando os níveis de citocinas, fatores de crescimento, enzimas e receptores locais. O transplante da membrana parece ser uma excelente alternativa para diversas patologias oculares, com elevada taxa de sucesso e um baixo índice de complicações, se asseguradas as suas condições de obtenção, preservação e manuseio^{2,7,8,9,13,16}.

A MA promove a epitelização, por atuar como substrato basal, facilitando a migração de células epiteliais limáticas, reforçando a adesão do epitélio à camada basal, promovendo a diferenciação celular e prevenindo a apoptose celular. Pode ainda atuar como protetor mecânico ao atrito palpebral e às células inflamatórias e proteínas do filme lacrimal. Em alguns casos, o transplante de MA pode adiar ou evitar futuros procedimentos cirúrgicos, poupando o paciente de uma intervenção mais arriscada^{2,3,8,16}.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia clínica do transplante de MA na reconstrução da superfície ocular.

3) MÉTODOS:

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HC-UFPR, sob protocolo 2.760.226. Foram respeitados os princípios éticos da privacidade e confidencialidade dos dados coletados. Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Esse estudo prospectivo incluiu 23 olhos de 21 pacientes que realizaram transplante de MA no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC-UFPR) e na clínica de Cirurgia e Diagnóstico em Oftalmologia do Paraná (CDOP), localizados em Curitiba-PR-Brasil, no período de maio de 2015 a julho de 2019.

Após autorização da parturiente através do TCLE, a MA foi captada a partir de parto cesárea eletivo e a termo, realizado no HC-UFPR. 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 era lavada com soro fisiológico 0,9% e preservada em solução diluída com o antibiótico gentamicina, durante o intervalo de nascimento até sua preparação definitiva, intervalo este nunca superior a 6 horas. A MA era preparada no centro cirúrgico ambulatorial (CCA) deste hospital, em ambiente estéril. Após sua separação completa da placenta, a MA era então estendida em papel filtro de nitrocelulose estéril de diversos tamanhos, com a face epitelial sempre voltada para cima. Era colocada em um frasco estéril contendo glicerol e meio de preservação na proporção 1:1 e mantida congelada em freezer a -80° Celsius e refrigerada a +4° Celsius. Seu tempo máximo de utilização era de 6 meses quando congelada e 2 semanas quando refrigerada.

As cirurgias foram realizadas por médicos oftalmologistas e residentes do HC-UFPR e médicos oftalmologistas do CDOP. Durante a cirurgia, a membrana era fixada na superfície ocular com fio nylon 10-0 ou vicryl 8-0 (20 casos), com pontos simples e/ou contínuos, ou cola biológica (8 casos, sendo que 7 foram associados ao fio). A técnica de transplante da membrana variou dependendo do tipo de lesão existente na superfície ocular: a membrana era colocada somente sobre a córnea, somente sobre a conjuntiva ou sobre toda a superfície ocular (córnea e conjuntiva); e em alguns casos, a membrana era utilizada para reconstrução dos fundos de saco conjuntivais. Em todos os casos deste trabalho a membrana foi colocada na superfície ocular com o epitélio voltado para cima. As suturas foram removidas de acordo com cada caso; geralmente a sutura com fio vicryl era retirada entre 2-3 semanas após a cirurgia e a sutura com fio nylon sobre a córnea, em torno de 2-4 meses, após completa absorção da membrana.

Em todos os pacientes foi administrado terapêutica tópica pós-operatória para reduzir o processo inflamatório e evitar a infecção secundária. Na maioria dos casos foi colocado lente de contato terapêutica no pós-operatório, para melhor conforto e maior aderência da membrana na superfície ocular.

Todos os pacientes continuam em seguimento ambulatorial, sendo que o acompanhamento pós-operatório é realizado conforme as necessidades de cada caso.

4) RESULTADOS:

Conforme demonstrado na tabela 1, dos 21 pacientes deste estudo, 5 tinham diagnóstico de queimadura ocular por álcali, 1 de queimadura térmica, 3 de úlcera em escudo, 1 de úlcera perfurada, 1 de Síndrome de Stevens Johnson, 1 de ceratopatia bolhosa, 2 de ceratopatia neurotrófica, 3 de pterígio recidivado (grau III ou IV), 1 de epidermólise bolhosa, 1 de penfigóide ocular cicatricial, 1 de simbléfaro após exérese de carcinoma epidermóide e 1 de deficiência limbar. Portanto, no presente estudo, observamos que as principais indicações da MA foram: queimadura química/térmica (28,5%) e úlcera em escudo (14,3%).

Dos 23 olhos, obtivemos êxito na reconstrução da superfície ocular em 22 olhos (95,6%). Insucesso foi observado apenas em 1 caso (ceratopatia bolhosa) em que o quadro foi mantido no pós-operatório. A idade dos pacientes variou de 11-82 anos, com média de 37,4 anos. Houve maior incidência no sexo masculino (66,6%). Ocorreu diferença na distribuição do olho acometido (maior no olho direito – 65,2%). Quanto à história de cirurgia oftalmológica prévia, 12 dos 23 olhos tinham história positiva (52,2%).

Observamos que nos pacientes em que foi possível a avaliação da acuidade visual pré-operatória (em alguns casos não foi realizada devido ao intenso desconforto ocular ou a incapacidade de abrir os olhos) todos apresentaram melhora ou manutenção da acuidade visual corrigida.

A tabela 2 demonstra as complicações observadas no pós-operatório: afinamento corneano (2 pacientes), conjuntivalização (5 pacientes), opacidade corneana (5 pacientes), neovasos em córnea (2 pacientes), triquíase (1 paciente), encurtamento de saco conjuntival (1 paciente), simbléfaro (7 pacientes), úlcera neurotrófica (1 paciente) e granuloma (3 pacientes).

Em 2 pacientes (queimadura por álcali e simbléfaro) foi necessário a reintervenção cirúrgica com re-transplante de membrana amniótica, devido a resolução incompleta do quadro no primeiro transplante. Em 1 caso (utilizado somente a cola biológica) houve extrusão da membrana amniótica da superfície ocular, porém a úlcera em escudo já estava cicatrizada e não houve a necessidade de re-transplantar a membrana. Em 6 casos foi associado o transplante de limbo autólogo e em 1 caso foi associado o transplante de mucosa labial autólogo.

Tabela 1 – Características demográficas, olho acometido, diagnóstico e acuidade visual com correção (AVCC) pré e pós-operatória.

DIAGNÓSTICO	IDADE (ANOS)	SEXO	OLHO ACOMETIDO	AVCC PRÉ-OPERATÓRIA	AVCC PÓS-OPERATÓRIA
Queimadura por álcali	45	Feminino	Direito	-----	20/30
Queimadura por álcali	12	Masculino	Esquerdo	-----	Movimento de Mãos
Queimadura por álcali	28	Masculino	Direito	20/120	20/25
Queimadura por álcali	44	Masculino	Direito	Movimento de Mãos	20/400
Queimadura por álcali	39	Masculino	Esquerdo	Movimento de Mãos	Conta Dedos
Queimadura térmica	14	Feminino	Direito	-----	20/125
Úlcera em escudo	11	Masculino	Direito	20/50	20/40
Úlcera em escudo	13	Masculino	Esquerdo	-----	20/50
Úlcera em escudo	12	Masculino	Direito	20/100	20/30
Úlcera perfurada	82	Masculino	Direito	-----	20/100
Síndrome de Stevens Johnson	28	Feminino	Ambos	-----	20/20 20/20
Ceratopatia bolhosa	47	Feminino	Direito	Conta Dedos	Conta Dedos
Ceratopatia neurotrófica	21	Feminino	Direito	20/60	20/60
Ceratopatia neurotrófica	34	Masculino	Direito	Movimento de Mãos	Movimento de Mãos
Pterígio recidivado grau IV	41	Masculino	Direito	20/40	20/30
Pterígio recidivado grau IV em OD e grau III em OE	39	Masculino	Ambos	20/50 20/25	20/25 20/25
Pterígio recidivado grau III	37	Feminino	Esquerdo	20/160	20/50
Epidermólise bolhosa	54	Masculino	Esquerdo	Conta Dedos	Conta Dedos
Penfigóide ocular cicatricial	60	Masculino	Esquerdo	Movimento de Mãos	Movimento de Mãos
Simbléfaro após exérese de carcinoma epidermóide	72	Masculino	Direito	Movimento de Mãos	Conta Dedos
Deficiência Limbar	54	Feminino	Direito	Conta Dedos	Conta Dedos

Tabela 2 – Complicações pós-operatórias.

COMPLICAÇÕES PÓS-OPERATÓRIAS (n=21)
Simbléfaro – 7 (33,3%)
Opacidade corneana – 5 (23,8%)
Conjuntivalização – 5 (23,8%)
Granuloma – 3 (14,2%)
Afinamento corneano – 2 (9,5%)
Neovasos em córnea – 2 (9,5%)
Triquíase – 1 (4,7%)
Encurtamento de saco conjuntival – 1 (4,7%)
Úlcera neurotrófica – 1 (4,7%)

5) DISCUSSÃO:

A MA foi usada essencialmente como substrato ou membrana basal para promover o crescimento de novas células da córnea ou conjuntiva, utilizando diferentes técnicas para recobrir a área do defeito. Em pacientes com lesões extensas e deficiência de células germinativas do limbo, foi aplicada uma única camada de MA associado ao transplante limbar. Em pacientes com úlceras profundas da córnea, foi aplicada MA em múltiplas camadas, a fim de preencher o defeito estromal. Este procedimento justifica-se pelas diferentes funções exercidas pela MA em cada uma das técnicas. A maior quantidade de matriz disponibilizada neste último caso acelera a cicatrização epitelial devido ao maior número de fatores de crescimento envolvidos. O transplante de MA em patologias como defeitos epiteliais persistentes, úlceras com e sem perfuração da córnea, pode ser considerado um tratamento eficaz, por promover o crescimento epitelial e facilitar a cicatrização^{3,4,12,17,18,20}.

Maharajan e cols²¹ apontaram que a definição de sucesso deve estar relacionada ao objetivo da MA, ou seja, se usado como adesivo ou enxerto e o resultado da sua aplicação. Assim, consideraram sucesso completo quando a membrana produziu o objetivo desejado para o qual seu uso foi proposto; sucesso parcial onde o objetivo foi alcançado, mas não necessariamente relacionado ao uso pretendido da MA ou quando nem todos os objetivos foram alcançados; e fracasso quando o objetivo pretendido não foi alcançado.

Os objetivos do transplante de MA são pouco relacionados à melhora visual, focando mais no alívio da dor e contenção e/ou correção de sequelas a outras doenças ou procedimentos cirúrgicos prévios. Porém, no presente estudo, observa-se que a acuidade visual corrigida teve melhora ou manteve-se inalterada em todos os casos.

Semelhante ao estudo de Lee e Tseng²⁴, que relataram bons resultados com transplante de MA em 10 de 11 casos com defeito epitelial crônico de diferentes etiologias; neste estudo, quase todos os pacientes submetidos ao transplante de MA obtiveram resultados satisfatórios, tendo-se observado completa epitelização nos casos em análise, que era o objetivo principal. Exceto em um único caso (ceratopatia bolhosa), em que acreditamos que o sucesso cirúrgico não foi obtido devido ao quadro em específico: idosa, com diversas comorbidades sistêmicas pró-inflamatórias, já havia realizado outros tratamentos oculares sem sucesso (colírios lubrificantes, corticoesteróides, hipertônicos e anti-inflamatórios; uso de lente de contato terapêutica, além da micropuntura) e então foi indicado MA como uma tentativa de retardar e/ou evitar o transplante de córnea.

A ceratopatia bolhosa sintomática é uma patologia grave, e é cada vez mais frequente devido ao aumento de cirurgias de catarata realizadas por

facoemulsificação. O transplante de MA tem sido utilizado nestes casos com resultados pouco conclusivos. A sua eficácia tem sido comprovada no tratamento paliativo de pacientes com baixa acuidade visual ou como medida temporária em pacientes intolerantes a lentes de contato terapêuticas indicados para transplante de córnea².

A pequena amostra de pacientes submetidos a transplante de MA por ceratopatia bolhosa em nosso serviço deve-se em grande parte à pequena fila de espera para a realização do transplante corneano, optando-se na maioria dos casos pelo transplante de córnea ao invés do transplante da membrana, na tentativa de melhorar a acuidade visual e o alívio da dor.

A MA tem apresentado excelente resultado nos casos de queimadura ocular, em que há parcial ou total dano à região limbar^{3,4,9,12}, como demonstrado em 6 casos neste estudo, com bons resultados pós-operatórios (melhora importante de sinais e de sintomas). Na fase aguda, pode ser utilizada com o objetivo de amenizar a inflamação local, promover a rápida epitelização e diminuir a dor. E na fase crônica, reconstruindo a superfície ocular e evitando sequelas mais graves, como simbléfaro^{3,4,9,12}.

O uso da MA no tratamento do pterígio é uma terapia eficaz nos casos onde o transplante conjuntival não é aconselhado (pacientes com pterígios extensos, com pterígio nasal e temporal, patologias conjuntivais cicatrizantes e que necessitam futuramente de cirurgia filtrante para tratamento do glaucoma)^{5,19}, com taxas de recorrência variáveis entre 3% e 25%². No presente estudo, a utilização de MA foi realizada apenas no tratamento de pterígios recidivados, uma rotina do hospital, associados com mitomicina tópica a 0,02% per-operatória, obtendo bons resultados, como a melhora da acuidade visual corrigida, dos sintomas e do aspecto estético, pois eram pterígios extensos (grau III e IV).

Mais da metade dos casos avaliados neste estudo já haviam realizado cirurgia oftalmológica prévia, relacionada ao diagnóstico que culminou com o transplante de MA ou por outra patologia. Esses olhos apresentavam processo inflamatório importante e, em alguns casos, exacerbadas áreas de fibrose e cicatrização. Mesmo assim, a membrana trouxe melhora dos sintomas de dor e sensação de corpo estranho em grande parte dos pesquisados, além da melhora ou manutenção da acuidade visual corrigida. A maioria dos pacientes desse estudo são jovens e estão na fase economicamente ativa (idade média da população foi de 37,4 anos), por isso a grande importância em minimizar os defeitos funcionais, e se possível estéticos, desses pacientes.

Crisóstomo e cols⁶ avaliaram o transplante de MA em pacientes pediátricos (média de 7 anos de idade) e verificaram sucesso completo em todos os doentes sem insuficiência limbar e apenas 1 caso de falência terapêutica (16,7%), como no presente estudo. Verificou-se ainda uma melhora do aspecto estético em todos os pesquisados. Esses dados

corroboram com os resultados desta pesquisa, uma vez que os melhores resultados estéticos e funcionais (AVCC) foram em pacientes jovens, ao se comparar com os pacientes de idades mais avançadas.

Como em qualquer tecido humano, as variações dos doadores afeta a composição da MA em algum grau. Isso inclui idade, raça, saúde materna e dieta do doador. Existem variações adicionais dependentes do sexo fetal, saúde, idade gestacional e especificidades relacionadas ao trabalho de parto²². Além disso, Hopkinson e cols²³ mostraram a relação do manuseio e processamento da MA, em que o efeito clínico da membrana pode ser aprimorado ou perdido, dependendo do manuseio e processamento do âmnio. O que nos faz concluir que o resultado final do transplante de MA envolve não apenas a gravidade do caso e a idade do paciente receptor, mas também características do doador (mãe e feto), além da manipulação da placenta e da confecção da membrana.

Até o momento, o processo para a realização da MA não é padronizado, porém já existe a confecção em laboratório de uma 'membrana sintética'. Colágeno ou polímeros são utilizados como matrizes para incorporar fatores de crescimento, citocinas, peptídeos antimicrobianos e outras substâncias adaptadas a aplicações clínicas específicas. Apesar de ainda não estar disponível na prática cirúrgica, isso abre caminho para um produto padronizado com resultados mais previsíveis.

Como a MA é formada basicamente por colágeno, seu uso para o preenchimento de áreas afinadas permite que ocorra aumento da espessura corneana ou escleral quando incorporada. Nos casos de afinamento corneano, obtivemos bons resultados, exceto em 2 casos em que houve a persistência do afinamento. Os casos que não foram bem sucedidos referiam-se a pacientes com úlcera neurotrófica e queimadura por álcali grave. Apesar disso, os pacientes relataram melhora significativa dos sintomas. Lee e Tseng²⁴ também obtiveram o mesmo resultado em casos semelhantes. O efeito da MA nesses casos foi, além da restauração da estrutura da córnea, diminuir o processo inflamatório e estimular o epitélio por suas propriedades bioquímicas já descritas anteriormente.

Como já relatado, houve complicações pós-operatórias, como demonstrado na tabela 2, porém acreditamos estar relacionado à doença de base e não propriamente ao transplante de MA, como em outros estudos da literatura^{3-5,7,13,15,16,18-24}.

No pós-operatório imediato, pode-se encontrar formação de hematoma sob a membrana. O sangue geralmente absorve ou pode precisar de drenagem, fazendo uma pequena abertura no enxerto, se for excessivo. Ocasionalmente, uma membrana subepitelial residual pode persistir em alguns casos e inadvertidamente opacificar o eixo visual. A calcificação ocorre em cerca de 12,8% dos casos. Placas brancas foram atribuídas à terapia com colírio de ciprofloxacino¹⁶. Ressaltamos que nenhuma dessas

complicações relacionadas ao transplante de membrana ocorreu nesse estudo.

No único caso realizado apenas com cola biológica houve a extrusão da membrana e por isso não indicamos a sua utilização sem a associação com alguns pontos para segurança e melhor aderência da MA na superfície ocular.

A incidência de infecção pós-operatória é muito baixa ($<1,6\%$)¹⁶, não sendo observado sinais em nenhum dos casos da presente análise, revelando-se um método seguro^{2,5,7,8}. Organismos Gram-positivos são os isolados mais frequentes¹⁶. Reforça-se, no entanto, a importância da escolha criteriosa dos pacientes e a manutenção de condições assépticas durante todo o procedimento pré, per e pós-operatório, como fundamentais para o sucesso do transplante de MA.

6) CONCLUSÃO:

A MA pode ser considerada uma boa alternativa para a reconstrução da superfície ocular, como tratamento isolado ou coadjuvante. Houve melhora do estado geral da superfície ocular em quase todos os olhos (95,6%) em que o transplante foi realizado. Não foi detectado maior incidência de complicações comparativamente ao descrito na literatura. Estudos com maior casuística e tempo de seguimento, para melhor compreensão dos fatores associados aos desfechos, pode ser útil.

7) FOTOS: comparação do pré com o pós-operatório em alguns dos casos descritos neste estudo.



8) REFERÊNCIAS:

- 1) Finger P, Jain P, Mukkamala S. Super-Thick Amniotic Membrane Graft for Ocular Surface Reconstruction. *Am J Ophthalmol*. 2019; 198, 45-53.
- 2) Sampaio M. Aplicação de membrana amniótica em oftalmologia. Mestrado integrado em medicina (área: oftalmologia). Universidade do Porto (Portugal). 2017.
- 3) Eslani M, Baradaran-Rafii A, Cheung A, Djalilian A, Holland E. Amniotic Membrane Transplantation in Acute Severe Ocular Chemical Injury: A Randomized Clinical Trial. *Am J Ophthalmol*. 2019; 199, 209–215.
- 4) Goktas S, Katircioglu Y, Celik T, Ornek F. Surgical amniotic membrane transplantation after conjunctival and limbal tumor excision. *Arq Bras Oftalmol*. 2017; 80, 4.
- 5) Clearfield E, Hawkins B, Kuo I. Conjunctival Autograft Versus Amniotic Membrane Transplantation for Treatment of Pterygium: Findings From a Cochrane Systematic Review. *Am J Ophthalmol*. 2017; 182:8-17.
- 6) Crisóstomo S, Proença R, Cardigos J, Basílio A, Toscano A. Aplicação de Membranas Amnióticas na Reconstrução da Superfície Ocular Externa em Idade Pediátrica. *Oftalmologia*. 2016; 40:271-8.
- 7) Uhlig C, Frings C, Rohloff N, Harmsen-Aasman C, Schmitz R, Kiesel L, Eter N, Busse H, Alex A. Long-term efficacy of glycerine – processed amniotic membrane transplantation in patients with corneal ulcer. *Acta Ophthalmol*. 2015; 93:481-7.
- 8) Meller D, Pauklin M, Thomasen H, Westekemper H, Steuhl K-P. Amniotic Membrane Transplantation in the Human Eye. *Dtsch Arztebl*. 2011; 108(14):243-8.
- 9) Kotomin I, Valtink M, Hofmann K, Frenzel A, Morawietz H, Werner C, Funk R, Engelmann K. Suturless Fixation of Amniotic Membrane for Therapy of Ocular Surface Disorders. *Plos One*. 2015; 10(5):0125035.
- 10) Malhotra C, Jain A. Human Amniotic Membrane Transplantation: Different modalities of its use in ophthalmology. *World J Transplant*. 2014; 24, 4(2): 111-121.
- 11) Gherorghe A, Pop M, Burcea M, Serban M. New clinical application of amniotic membrane transplant for ocular surface disease. *J Med Life*. 2016; 177-9.
- 12) Atallah M, Palioura S, Perez V, Amescua G. Limbal stem cell transplantation: current perspectives. *Clinic. Ophthalmol*. 2016; 10, 593-602.
- 13) Rizzuti A, Goldenberg A, Lazzaro D. Amniotic membrane allografts: development and clinical utility in ophthalmology. *Chronic Wound Care Management and Research*. 2014; 1, 67–72.

- 14) Fernandes M, Sridhar M, Sangwan V, Rao G. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction. *Cornea*. 2005; 24(6):643-53.
- 15) Clare G, Suleman H, Bunce C, Dua H. Amniotic membrane transplantation for acute ocular burns. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012; (9):CD009379.
- 16) Sangwan V, Burman S, Tejwani S, Mahesh S, Murthy R. Amniotic membrane transplantation: A review of current indications in the management of ophthalmic disorders. *Current Ophthalmology*. 2007; 55:251-260.
- 17) Fallah M, Golabdar M, Amozadeh J. Transplantation of conjunctival limbal autograft and amniotic membrane vs mitomycin C and amniotic membrane in treatment of recurrent pterygium. *Eye (Lond)* 2008; 22(3):420-4.
- 18) Seitz B, Das S, Sauer R, Mena D, Hofmann-Rummet C. Amniotic membrane transplantation for persistent corneal epithelial defects in eyes after penetrating keratoplasty. *Eye*. 2009; 23, 840–8.
- 19) Pan X, Zhang D, Jia Z, Chen Z, Su Y. Comparison of hyperdry amniotic membrane transplantation and conjunctival autografting for primary pterygium. *BMC Ophthalmology*. 2018; 18:119.
- 20) Liu J, Sheha H, Fu Y, Liang L, Tseng S. Update on amniotic membrane transplantation. *Expert Rev. Ophthalmol*. 2010; 5(5), 645–661.
- 21) Maharajan V, Shanmuganathan V, Currie A, Hopkinson A, Powell-Richards A, Dua S . Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction: indications and outcomes. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2007; 35: 140–147.
- 22) Rahman I, Said D, Maharajan V, Dua H. Amniotic membrane in ophthalmology: indications and limitations. *Eye*. 2009; 23, 1954–61.
- 23) Hopkinson A, McIntosh R, Tighe P, James D, Dua H. Amniotic membrane for ocular surface reconstruction: donor variations and the effect of handling on TGF-beta content. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006; 47: 4316–4322.
- 24) Lee S, Tseng S. Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. *Am J Ophthalmol*. 1997;123:303-12.

COLABORADORA:

Bruna Girardi – Especializanda do serviço de Oftalmologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC-UFPR), Curitiba (PR), Brasil.