

# Amnion Membran Transplantasyonunun Oftalmolojide Yeri

## AMNIOTIC MEMBRANE TRANSPLANTATION IN OPHTHALMOLOGY

Rana Altan YAYCIOĞLU\*, Yonca AYDIN AKOVA\*\*

\* Uz.Dr., Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları AD,

\*\*Prof.Dr., Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları AD, ANKARA

### Özet

Fetal zarların en iç tabakası olan amnion membranı stromal matriks, üzerinde kalın bir kollajen tabaka ve en üstte bazal membran ile tek katlı epitel hücreleri içerir. Amnion membranı biyolojik bir kontakt lens veya bazal membran şeklinde davranabileceği gibi çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinler yardımıyla iyileşmeyi ve epitel hücre büyümesini arttırarak ve enflamasyon ile fibrozisi baskılayarak etkisini gösterir. Amnion membran transplantasyonu iyileşmeyen epitel defektleri, kimyasal yanıkların kronik evresinde, pterijum cerrahisinde, konjonktiva defektlerinde kullanılmaktadır. Amnion membranı son yıllarda limbal kök hücrelerinin ex vivo bir ortam sağlayarak genişletilmesi amacıyla kullanılmakta, ayrıca kısmi veya total limbal kök hücre yetersizliğinde tek başına veya limbal kök hücre transplantasyonu ile birlikte kullanılmaktadır.

**Anahtar Sözcükler:** Amnion membranı, Limbal kök hücreler, İyileşmeyen epitel defektleri

T Klin Oftalmoloji 2003, 12:227-236

### Summary

Being the innermost layer of fetal membranes amniotic membrane is composed of a stromal matrix, thick collagen layer overlying basal membrane with a single epithelial layer. Amniotic membrane may show its effect by acting as a biological contact lens, or as a basal membrane, by promoting healing or epithelial cell growth via several growth factors and cytokines, and by inhibiting inflammation and fibrosis. Amniotic membrane transplantation is being used in persistent epithelial defects, chronic phase of chemical burns, pterygium surgery, and in conjunctival defects. In recent years amniotic membrane is being used for the expansion of limbal stem cells in ex vivo environment, and in partial or total limbal stem cell deficiency it has been used alone or in combination with limbal stem cell transplantation.

**Key Words:** Amniotic membrane, Limbal stem cells, Persistent epithelial defects

T Klin J Ophthalmol 2003, 12:227-236

Amnion membranı (AM) yanık cerrahisinde, artifisyonel vajinada, deri yaralanmalarında örtü amaçlı, omfalosellerde, baş, abdomen ve pelvis cerrahilerinde doku yapışıklığını önlemek amacı ile kullanılmıştır (1,2). Oftalmolojide ilk olarak yirminci yüzyılın ilk yarısında (1940) deRoth tarafından konjonktiva hasarları ve semblefaron tedavisinde korion tabakası ile birlikte kullanılmıştır. Ancak amnion membran transplantasyonu (AMT) Kim ve Tseng'in 1995 yılında tavşan kornealarında epitelin total soyulması ve limbal lamellar keratektomiye takiben oküler yüzeyin tekrar oluşturulması amacıyla uygulamaları sayesinde günümüzdeki popülaritesini kazanmıştır (2). Takip eden yıllarda oftalmolojide AM'nin kullanıldığı alanlar giderek artmıştır.

T Klin J Ophthalmol 2003, 12

AM damarsız yapısı ile immunolojik bir red cevabına sebep olmaz. Ayrıca yapısındaki çeşitli büyüme faktörleri sayesinde epitelizasyonu arttırıcı, yara oluşumunu ve fibrozisi azaltıcı etkisi bulunmaktadır. Stevens-Johnson sendromu, skatrisyel pemfigoid ve kimyasal yanıklar oküler yüzeye hasar vererek başka problemi olmayan gözlerin görmelerini kaybetmelerine sebep olabilirler. Bu hastalıklarda ortak patoloji hasarlı kornea epitelinin yapılanmasından sorumlu kök hücre popülasyonunda azalmadır (3). Korneanın bu tip veya benzeri hastalıklarında penetran keratoplasti ve limbal kök hücre (LKH) transplantasyonları uygulanmaktadır. Bu operasyonlara hazırlık olarak öncelikle AMT (4), takiben penetran keratoplasti veya LKH transplantasyonu, veya bazı olgularda

227

AMT ve LKH naklinin birlikte uygulanımı tavsiye edilmektedir (5).

Son yıllarda amnion membranının (AM) limbal doku için inflame olmayan perilimbal stroma ortamı hazırlayarak kornea yüzey yapılanmasına yardımcı olduğu bildirilmektedir (5).

### **Amnion Membranının Yapısı ve Saklanması**

Amnion membranı plasentanın en iç tabakasıdır ve üç tabakadan oluşur: tek katlı epitel tabakası, kalın bir bazal membran, ve damarsız stroma (6). Amnion membranı, konjonktiva ve kornea bazal membranı gibi tip IV, V, ve VII kollajen, ve fibronektin ve laminin içerirler. Ancak tip IV kollajen alt zincirleri ve laminin incelemeleri AM'nin kornea bazal membranından çok konjonktiva bazal membranına benzediğini göstermiştir (7). Amnion epitel fibroblast büyüme faktörü, hepatosit büyüme faktörü, ve transform edici büyüme faktörü  $\beta$  üreterek epitelizasyonu uyarır (8). Bunların enflamasyondaki rolü tam belirlenmemiştir, ancak lökosit ve enflamatuar hücrelerin AM tarafından toplanmasının antienflamatuar etkilerinin bir kısmından sorumlu olabileceği düşünülmektedir (9).

AM'nin hazırlanışı Lee ve Tseng tarafından tanımlanmıştır (1). Elektif sezaryen sonrasında elde edilen plasentalar kullanılmaktadır. Vajinal doğum sırasında amnionun kontamine olma ihtimalinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (10). Annelerin HIV, hepatit B ve C virüs tipleri, ve sifilis açısından test edilmeleri gereklidir. Laminer akım altında 50  $\mu\text{g/ml}$  penisilin, 50  $\mu\text{g/ml}$  streptomisin, 100  $\mu\text{g/ml}$  neomisin, ve 2.5  $\mu\text{g/ml}$  amfoterisin B içeren steril fosfat tamponlu tuzlu solüsyon ile yıkanırken plasenta kan pıhtılarından temizlenir. Amnion korion tabakasından künt disseksiyonla ayrılarak bir nitroselüloz kağıdın üzerinde epitel-bazal membran yüzeyi üstte kalacak şekilde düzleştirilerek gergin bir şekilde yerleştirilir. Amnion membranı yapışık nitr selüloz kağıt 3x4 cm'lik parçalara bölünür ve transplantasyon öncesi 1:1 oranında Dulbecco ile modifiye edilmiş Eagle solüsyonu ve gliserol içeren şişelerde  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de dondurularak saklanır (5). Kullanımdan önce oda ısısında bekletilerek yavaş şekilde erimesi beklenilir.

Günümüze kadarki tecrübelerin büyük kısmı AM'nin dondurularak saklanması yönündedir. Taze AM kullanımı tarif edilmiş olsa da (11) genellikle planlanan AMT'den belli bir süre önce ve kişiye özel boyutlarda AM'ye ihtiyaç duyacağı için pratik değildir (12). Ayrıca ilk testler sırasında pencere döneminde olan kan yoluyla bulaşan hastalıkların iletilmesine sebep olabilir (13). Buna rağmen akut kimyasal yanıklı hastalarda saklanmamış AM'nin kullanıldığı bir çalışmada nakil sonrasında herhangi bir enfeksiyöz, enflamatuar, veya toksik/alerjik reaksiyon görülmediği bildirilmiştir (14). Dondurularak saklamada AM epitel ve stromasındaki fibroblastların, ve ilgili büyüme faktörlerinin yapılarında bozulma olup olmadığı henüz belirsizdir. Kruse ve ark. (15) AM hücrelerinin dondurulma sonrasında canlı kalmadığını vital boyamalar ve hücre kültüründe büyümemesi ile göstermişlerdir.

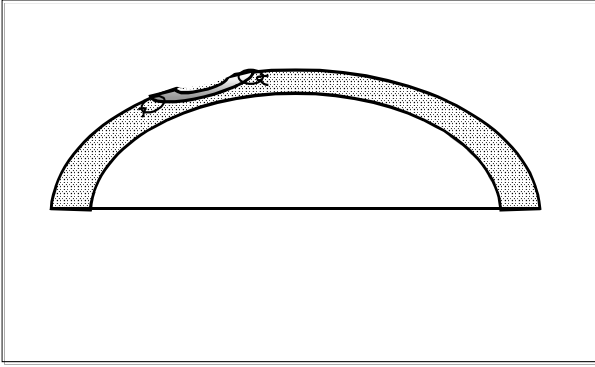
### **Amnion Membran Cerrahisi**

Amnion membranının kullanım şekilleri tarif edilirken üç teknik üzerinde durulmaktadır; defektli bölgeyi kapatacak şekilde *ıçe yerleştirilen "inlay" (greft) tekniği*, kornea ve limbusu kapatacak şekilde üzerine yerleştirilen *örtü "overlay" (yama) tekniği*, ve incelmış bölgeyi kapatacak şekilde *doldurma tekniği* (6).

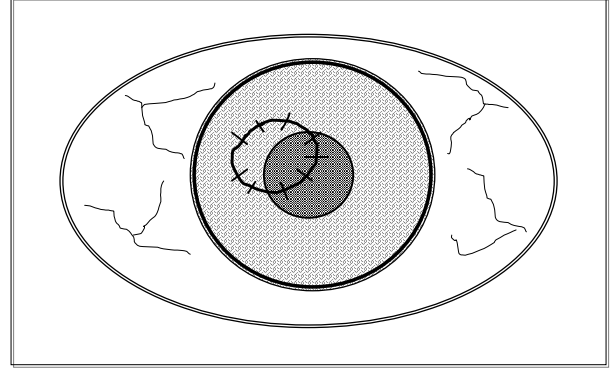
### **İçe Yerleştirme Tekniği**

Genellikle kornea epitelinin bazal membranında hasar olan durumlarda tercih edilen bu yöntemde AM defekt olan bölgeden biraz daha büyük olacak şekilde ayarlanır ilgili bölgeye epitel-bazal membran yüzeyi yukarı bakacak şekilde sütüre edilir (Şekil 1 A ve 1 B) (1). AM'nin bazal membranı genellikle membranın nitroselüloz kağıda yerleştiriliş şeklinin stroma yüzeyi aşağıda olacak şekilde olması ve stroma yüzeyinin daha yapışkan olması ile ayırt edilebilir. Ayrıca künt forsepslerle dokunulduğunda vitre benzeri iplikçikler stroma yüzeyinden gelebilmektedir (13).

AM'nin kornea yüzeyinde düz yerleştirilmesi ve altına kan veya sıvı kaçmamasına dikkat edilmesi gerekmektedir. İyileşmeyen epitel defekti veya steril ülserasyon olgularında çevredeki zayıf



1A.



1B.

**Şekil 1.** Amnion membranının içe yerleştirme tekniği kullanılarak korneada hasarlı bölgeye uygulanışını gösteren çizim. Amnion membranı korneaya 10-0 naylon veya 10-0 poliglaktin kullanılarak stroma altta kalacak şekilde yerleştirilir. A: Korneanın kesiti, B: Gözün iönden görünümü.

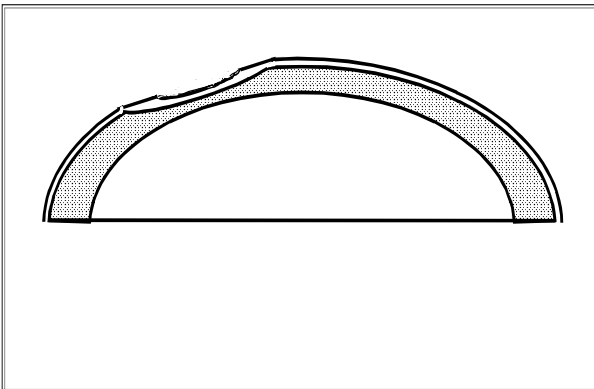
yapışık epitelin de ayrılmayan bölgeye gelene kadar soyulması gerekmektedir. AM'yi korneaya sütüre edebilmek amacıyla 10-0 naylon veya 10-0 poliglaktin (vicryl) kullanılabilir, ancak naylon sütürlerin alınması gerekmektedir. Düğümlerin kısa kesilmesi, ancak gömülmemesi tavsiye edilmektedir (16), bu sayede sütür alımı esnasında epitelin tekrardan ayrılmasından kaçınılmış olunur.

Bu yerleştirme metodunda amnion zarı bazal membran görevi görür ve üzerine yeni kornea epiteli büyüyebilir (17). Ancak burada AM yeni epitelin altında kalacağı için korneanın saydamlığı en azından geçici bir süre bozulacaktır, bu sebeple epitel defekti iyileştiğinde tam görmeye kavuşması

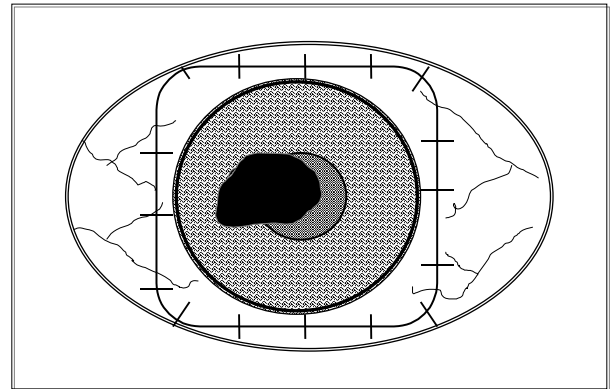
beklenen kişilerde bu yöntem kullanılmamalıdır (17).

### Örtü Tekniği

İkinci tip uygulama yöntemi olan örtü tekniğinde AM kornea, limbus, ve perilimbal alanı kaplayacak şekilde uygulanmaktadır (Şekil 2 A ve 2 B). Bu şekil uygulamalarda AM biyolojik bir kontakt lens gibi hareket eder (18,19). İçe yerleştirme yöntemine üstünlüğü altında epitelizasyon oluştuğundan sonra AM ayrılınca net görmeye derhal kavuşulmasıdır. AM ne kadar uzun kalırsa epitelizasyon o derecede başarılı olacaktır, ancak bu yöntemde bazı hastalarda kornea epitelizasyon tamamlanmadan AM'de ayrılma



2A.



2B.

**Şekil 2.** Örtü tekniğinde amnion membranının korneanın tümünü limbus ve skleranın bir kısmını da içine alarak yerleştirilmesi gereklidir. Bu teknikte amnion membranı konjonktivaya 8-0 veya 9-0 vicryl sütürler kullanılır. A: Korneanın kesiti, B: Gözün iönden görünümü

olabilmektedir (17). Kornea stromasındaki vaskülarizasyon AM'nin reabsorpsiyonunu hızlandırmaktadır (20).

Teorik olarak bu yöntemde AM'nin yerleştirme yönü önemli değildir, ancak genellikle bazal membran alta bakacak şekilde yerleştirilir. AM çevre konjonktiva ve episkleraya tekli 8-0 veya 9-0 vicryl sütürlerle tutturulur. Ek bir 10-0 "çanta-sapı" sütürü ortadaki korneanın midperiferine konulabilir.

Bazı olgularda AM aynı göze her iki teknik beraber kullanılarak uygulanabilir. Bu içe yerleştirilen greftin üzerinin amnion zarı ile kapatılması şeklindedir. Limbal kök hücre nakli ile birlikte AMT uygulanırsa LKH grefti içe yerleştirilen AM'nin üstüne sütüre edilebilir veya LKH greftlerinin üzerine AM örtü şeklinde uygulanabilir.

### ***Doldurma Tekniği***

Korneada derin stroma ülserasyonu olan olgularda AM birkaç kat halinde ülser kavitesini doldurmak amacı ile kullanılabilir. AM'nin küçük parçalara bölünerek veya katmanlar halinde yerleştirilmesi ile ülser kavitesinin doldurulacağı ve bu yöntemle doku için gereken kollajen ihtiyacının sağladığı savunulmuştur (21,22). Derin tabakalarda membranın yerleşim yönü önemli değildir; ancak en üst tabaka bazal membran katı üstte olacak şekilde yerleştirilerek yerine sütüre edilir ve üzerine epitelin büyümesine olanak sağlar.

Cerrahi sonrasında geniş çaplı hidrofilik bandaj kontakt lens yerleştirilir. Epitelizasyon tamamlanıp enflamasyon sakinleşinceye kadar topikal antibiyotik ve steroid damlalar kullanılır. Sistemik immunosupresyon genellikle gereksizdir. Örtü tarzı kullanıldığında AM kornea üzerinde haftalar veya aylar içerisinde dağılır. İçe yerleştirildiğinde üzerinin epitelize olmasını artırır ve daha uzun zaman süresince genellikle varlığını korur (16,23). Bazı durumlarda da AMT'nin birkaç sefer tekrarlanması gerekebilmektedir (18).

### **Amnion Membranının Etki Mekanizması**

Çalışmalar AM'nin değişik sitokin, büyüme

faktörleri, enzimler, ve reseptörlerin seviyesini düzenlediğini göstermektedir. Ancak bu düzenlemelerin nasıl geliştiği halen açıklık kazanmamıştır. Klinik çalışmalar AM'nin iki önemli etkisinin olduğunu düşündürmüştür: epitelizasyonu hızlandırmak ve enflamasyon ile fibrozisin baskılanması.

### ***Epitelizasyonu Arttırmak***

AM içe yerleştirme şeklinde kullanıldığında bazal membran gibi hareket eder ve mekanik koruma sağlar. Bazal membran genellikle epitel hücrelerinin migrasyonunu kolaylaştırır, bazal epitelin adezyonunu artırır, hücrel farklılaşmayı uyarır (24), ve hücrel apoptozisi önler (25). AM özellikle örtü şeklinde uygulandığında bandaj kontakt lense benzer fonksiyon göstererek göz kapaklarının cam silici etkisinden epitel hücrelerini korur (18,19). Aynı etkinin anti-enflamatuar etkiye de katkısı olduğu düşünülmektedir: AM göz yaşı içerisindeki enflamatuar hücre ve proteinlerin hasar verici etkisinden korneayı fiziksel engel yaratarak korur (16).

Amnion bazal membranı kornea bazal membranının bazı özelliklerini taşır. AM üzerinde epitelizasyon onun bazal membranını kullanarak birkaç hafta içerisinde oluşur. Başlangıçta defektli bölgeyi doldururken zamanla yerini fibroblast ve kollajen alır ve stroma kalınlığı korunur, ancak kornea eski saydamlığına sahip olamaz (20).

Amnion membranının epidermal büyüme faktörü, hepatosit büyüme faktörü, ve keratinosit büyüme faktörü sunduğu bildirilmiştir (25). Ancak dondurarak saklama işleminde AM hücrelerinde hasar sonucu bu büyüme faktörlerinde azalma olduğu düşünülmektedir (25). AM ayrıca kontakt halinde bulunduğu dokuda da büyüme faktör sunumunu arttırmaktadır: Fare kornealarında geniş epitel defektlerinin kapanmasında AM örtüsünün bandaj kontakt lens ile karşılaştırılmış, ve keratinosit büyüme faktörü sunumunu daha fazla arttırdığı bildirilmiştir (25).

Amnion membranının bir diğer fonksiyonu kültürde konjonktival ve limbal epitel hücrelerini korur ve geliştirir (24,26). Koizumi ve ark. (27) asellüler insan amnion zarında 14. günün sonunda

kornea epitel hücrelerinin birleşen primer kültürünü elde edebilmişlerdir. Ayrıca bunların keratektomize kornea yüzeylerinde migrasyon kabiliyeti ile yayılabildiğini ve hemidesmozomlar kadar güçlü olmasa da bazal membranın iyi yapışma özelliğine sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Amnion membran transplantasyonu sonrasında gelişen epitelin fenotipi yüksek dansitede epitel hücresi ve goblet hücreleri içermesi sebebi ile konjonktiva gibidir (28). AM'de kültüre edilen konjonktiva epitel hücrelerinin kornea epiteli benzeri özellik kazanacakları düşünülmüş, ancak daha yeni çalışmalarda bu tip bir değişimin olmadığını ve belirgin dönüşümün çevresel etkenlerle konjonktivada metaplazi sonucu olduğu gösterilmiştir (2,29).

### ***Enflamasyon ve Fibrozisin Azaltılması***

Klinik çalışmalarda AM'nin anti-enflamatuvar özellikleri olduğu ve bunun yeni damar oluşumu ve fibrozisi azalttığı, hızlı epitelizasyon ve kornea yüzeyinin uzun dönemde stabilizasyonunu sağladığı gösterilmiştir (16,23). Bu özellik AM'nin korneaya stroma yüzeyi ile iyi yapışması ve göz yaşına karşı iyi bir engel oluşturmasına bağlanmıştır (16). Alkali yanıklar ve excimer lazer sonrası uygulanan AMT'nin kornea stromasına enflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu azalttığı tavşan çalışmalarında gösterilmiştir (30). Polimorfonükleer lökositler ve yaralı epitel hücreleri ile keratositlerden salınan proteazların artmış aktiviteleri kornea ülserasyonunda stroma yıkımına katkıda bulunurlar. Amnion membranı proteaz inhibitörleri içermektedir, ve proteinazlara in vitro ve tavşan alkali yanık modelinde inhibitör etki göstermiştir (25).

### **Amnion Membranının Kullanım Alanları**

#### ***Konjonktiva yüzey rekonstrüksiyonu***

#### **Konjonktiva hasarlarının tamiri**

Konjonktivanın geniş defektlerinde konjonktival otogreft yöntemine alternatif olarak elde edilmesinin güç olmaması sebebi ile AMT kullanılabilir. Semblefaron çıkarılması sonrası konjonktivada oluşan defektler kendi hallerine bırakıldığında bu bölgede granülasyon dokusu

oluşabileceği için bu bölgenin insan amnion membranı ile kapatılması ile başarılı sonuçlar elde edilmiştir (31). Haftalar içerisinde erimesi sebebiyle transplantasyon bölgesinin yanında normal konjonktiva dokusunun bulunması gerekmektedir. Konjonktivanın intraepitelyal neoplazilerinin eksizyonu sonrasında, skar, semblefaron, konjonktivoşalazis tedavisinde ve sklera defektlerinin kapatılmasında AMT'nin yeri vardır (32).

AM'nin glokom cerrahileri sonrasında sızdıran bleblerde kullanılması denenmiştir. Ancak, glokom cerrahisinde kullanılacak AM'nin filtrasyona izin verme gibi fonksiyonel rolünün yanı sıra suyu geçirmemesi de gerektiği için sızdıran glokom filtrasyon blebi tamirinde konjonktiva advansmanına bir alternatif olamayacağı bildirilmiştir (33). Matür AM blebinin antimetabolit uygulanmış bleb görünümünde avasküler olması sebebi ile geç dönemde de kaçığa sebep olabileceği düşünülmektedir.

### ***Pterijum Cerrahisi***

Pterijum cerrahisi sonrasında nüks sık gelişmektedir. Konjonktival otogreftleme ve topikal antifibrotik ajan olarak mitomisin C uygulanması nüksleri azaltmak amacıyla kullanılmaktadır. AMT bu iki yöntemine alternatif olarak önerilmiştir. Konjonktival otogreftte avantajı bulber konjonktivanın korunmasını sağlaması, ve mitomisin C'ye avantajı ise sklerada erime gibi ciddi komplikasyon riski taşımamasıdır (34). Primer pterijumların çıkarılması sonrasında uygulanan AMT ciddi komplikasyonunun olmaması ve nüks oranının düşüklüğü ile başarılı ve emniyetli bulunmuştur (35). Prabhasawat ve ark. (36) pterijum tedavisinde AMT yapılmış hastalar ile konjonktival otogreft uygulanan hastaları karşılaştırmışlar ve AMT kullanılan gözlerde daha yüksek nüks oranı bulmuşlardır. Aynı grup bir diğer çalışmada cerrahi stillerini geliştirerek karüncüle kadar uzanan daha geniş eksizyon ve subkonjonktival steroid enjeksiyonu yaptıklarında nüks oranında azalma ve sırasıyla %3 ve 9 olmak üzere primer ve nüks pterijumlarda benzer oranda nüks olduğunu bildirmişlerdir (37).

Geniş tekrarlayan pterijumlarda LKH yetersiz-

liğinin de bulunduğunu düşünerek Shimazaki ve ark. (8) AMT beraberinde aynı göz saat 12'den aldıkları LKH'ni de transplante ettiklerinde operasyonun başarısında artış gözlemişlerdir. Kseroderma pigmentozum tanılı genç bir hastada bilateral pterjium eksizyonu sonrası çok katlı AM kullanılmış ve bir yıllık takipte nüks görülmemiştir (38).

### ***Kornea ve Sklera yüzeylerinin Rekonstrüksiyonu***

#### **Korneanın İyileşmeyen Epitel Defektleri ve Ülserleri**

Nörotrofik keratit, keratokonjonktivitis sikka gibi oküler yüzey hastalıkları, Stevens-Johnson sendromu, oküler skatrisyel pemfigoid gibi kronik enflamatuar hastalıklar, kısmi veya total LKH yetersizliği sonucunda iyileşmeyen epitel defektleri gelişebilir. Bu defektlerin tedavileri zordur, ve kronik enflamasyon, yara veya ülser oluşumu ile oküler yüzeyde incelmeye sebep olabilirler.

İyileşmeyen epitel defektlerinin konservatif tedavisinde öncelikle, mevcutsa, kullanılan toksik ilaçlar kesilir, bunu göz yaşı kullanımı, punktum tıkaçları, bandaj kontakt lens, veya tarsorafı takip eder. Bu yöntemlerin başarısız olduğu durumlarda AMT epitelizasyonu arttırmakta başarılı bulunmuştur (1). Ayrıca AM'nin yenilenen hassas epiteli göz kapaklarının hareketi ile oluşabilecek sürtünmelere karşı da koruduğu düşünülmektedir (39). Tek veya çok katlı olarak uygulanabilen AM'nin çok katlı kullanıldığında epitelizasyonu hızlandırdığı bildirilmiştir (40). Sonuçlar umut verici görünse de nüks gelişebilmekte ve membranın tekrar uygulanması gerekebilmektedir (18).

### ***Desmatosel Oluşumu ve Kornea Perforasyonu***

Yakın zamana kadar kornea perfore olduğunda veya perforasyon riski taşıdığına uygulanan cerrahi ilgili bölgenin acil olarak konjonktiva ile örtülmesidir. Ancak bu yöntem sonucunda gelişebilen vaskülarizasyon, fibrozis ve anormal epitel çoğalması ileride planlanacak keratoplasti ameliyatının başarı şansını azaltmaktadır.

Ülserlerde olduğu gibi oküler yüzeyde devam eden enflamatuar olaylar kornea greftlerinin erken reddedilmesine sebep olabilirler. Oküler yüzeyin yeniden yapılanması için ülser yatağı yeni kollajen ile dolmalı, bunun beraberinde epitelizasyonun sağlanması için bir bazal membran mevcut olmalı ve enflamasyon baskılanmalıdır.

Korneada perforasyon riski taşıyan olgularda AM kullanımının etkinliği araştırıldığında derin ülserasyonların ve desmatosellerin tedavisi için gerekli olan büyüme faktörlerinin amnion membranında mevcut olduğu, AM kullanılması ile enflamasyonun baskılanacağı, ayrıca AM'nin bazal membran ve kollajen içerirken allojenik hücre içermemesi sayesinde ileride uygulanacak penetran veya lameller keratoplastilerin başarı şansını arttıracığı savunulmaktadır (22). Kornea perforasyonu veya desmatosel olan olgularda içe yerleştirme ve örtü şeklinde çok katlı AM kullanılmış, %67 olguda başarı elde edilmiş, başarısız olunan gözlerde de ya LKH yetersizliği ya da otoimmün hastalık olduğu gözlenmiştir (21). Bir başka çalışmada 5 kornea perforasyonlu olguda AMT örtü tarzında uygulandığında başarısız olunarak acil tektonik keratoplastiye gidilmiştir (19). Siyanoakrilat yapıştırıcılarla birlikte kullanıldığında ise AM yapıştırıcının ihtiyaç duyduğu kuru ortamı sağlamış, ve perforasyon yeri beyaz bir skar dokusu ile iyileşmiştir (41).

### ***Sklera Perforasyonu***

Hanada ve ark. (21) tarafından biri mitomisin C kullanılan pterjium çıkarımı sonrasında, diğeri de yabancı cisim ile ilişkili olarak gelişen iki sklera mikroperforasyonunun tedavisinde aynı kişinin tenon kapsül dokusu ile ülser doldurulup üzeri AM ile kapatılmış ve sonuç başarılı olmuştur.

### ***Limbal Kök Hücre Transplantasyonuna İlaveten AMT***

Kornea epiteli kök hücreleri limbusta yer almaktadır. Bu bölge stroması kornea epitel kök hücrelerinin yaşama ve fonksiyonu açısından çok özeldir. Kimyasal veya termal yaralanmalar, limbal bölgeyi içine alan geçirilmiş çok sayıda cerrahi, 5-fluorourasil gibi antimetabolit ilaçların kronik

kullanımı, Stevens-Johnson sendromu gibi kronik enflamatuvar hastalıklarda belli bir miktarda limbus epitelinin hasar görmesi sebebi ile LKH eksikliği gelişebilir. Bu korneada iyileşmeyen epitel defektlerinin oluşmasına veya bir dereceye kadar kornea yüzeyinin konjonktiva epitelini ile kaplanmasına yol açar. Ayrıca bu durum kronik enflamasyon, neovaskülarizasyon, skarlaşma, ülserasyon, incelme ve erime ile de sonuçlanabilir (42).

Anderson ve ark. (4) kısmi LKH yetersizliklerinde, AMT'nin in vivo olarak mevcut limbal epitel kök hücrelerinin saklanması ve genişletilmesi için uygun bir matriks sağladığı düşüncesinden yola çıkarak bu hastalara AMT uygulamışlardır. AMT'nin uzun dönemde stabil ve sağlam kornea epitel yüzeyi yarattığını gözlemiş ve bunun beraberinde sistemik immunosupresyona da gerek kalmadığı için sistemik yan etkilerine maruz kalmadığını bildirmişlerdir (4). Klinik olarak kanıtlanmış LKH eksikliklerinde AM'yi tek başına veya LKH'lerle birlikte transplante ettikleri olgularda Tseng ve ark (5) kısmi LKH yetersizliklerinde AMT'nin tek başına yeterli olduğunu göstermişler, ancak total LKH yetersizliği durumunda AMT'nin tek başına yeterli olmadığını ve bu durumda LKH transplantasyonuna AMT'nin eklenmesi gerektiğini vurgulamışlardır.

Oküler yüzey enflamasyonlarının LKH transplantlarının canlılığına negatif etki ettikleri gösterilmiştir (43). AMT'nin, aynı anda veya farklı zamanlarda yapılsa da, epitelizasyonu artırıcı ve enflamasyonu baskılayıcı etkilerinin LKH transplantasyonunun başarısını artırıcı bir ortam sağladığı düşünülmektedir. Bu işlemin ağır oküler yüzey hastalıklarında oküler yüzey rekonstrüksiyonu ve tarsorafı beraberinde gerçekleştirilmesi ile cesaretlendirici sonuçlar alınmıştır (5,44). Ayrıca Stevens-Johnson Sendromu olan hastalarda operasyon öncesi uygulanan Schirmer testinde göz yaşı fonksiyonunun derecesi ile postoperatif dönemdeki başarının düz orantılı olduğu bildirilmiştir (45).

### ***Kimyasal ve Termal Yanıklar***

Kimyasal ve termal yanıklar sonrasında konjonktiva ve kornea epitelinde devam eden hasar

ve limbal iskeminin etkisiyle dokuda enzimatik yıkım sonucu korneada erime ve steril ülserasyon gelişir. AMT kimyasal ve termal yanıkların kronik fazında oküler yüzeyin yapılanmasında kullanılmaktadır. Bazı yeni çalışmalarda AMT'nin kimyasal yanıkların erken dönemindeki etkinliği araştırılmıştır (46,47). Meller ve ark. (46) orta ve ağır yanıklarda akut evrenin erken dönemi sonrası uygulanan AMT'nin epitelizasyonu arttırarak ve enflamasyonu baskılayarak kronik dönemde skarlaşmayı azaltabileceğini öne sürmüşlerdir. Bu çalışmada ikinci derece yanıklarda AM kısmi LKH yetersizliğinde enflamasyonu baskılamış, semblefaronu önlemiş, ağır yanıklarda konjonktiva epitel yüzeyi semblefaron oluşmadan ve minimal stroma infiltrasyonu ile iyileşmiş, ancak konjonktivalizasyon engellenememiştir. Bir başka çalışmada ise ağır yanıklarda AMT'nin etkisiz kaldığı bildirilmiştir (48).

### ***AMT'nin Diğer Kullanım Alanları***

Değişik serilerde AMT'nin farklı kullanım alanları tarif edilmiştir: Skatrisyel entropionun düzeltilmesinde tarsusta ayırma yapıldığında amnion zarı ile kaplama sonrası epitelizasyon hızlanırken daha erken kozmetik başarıya ulaştırdığı bildirilmiştir (49).

Başarı şansı düşük trabekülektomi operasyonlarında yapışıklığı giderici özelliğinden yararlanmak amacıyla mitomisin C'li skleral fleplerin altına AM yerleştirilen 14 gözün 13'ünde iki yıllık takiplerinde iyi kontrol edilmiş göziçi basıncı elde edilmiştir (50).

Semptomatik büllöz keratopati olgularında az görme potansiyeli olan hastalarda daha kolay uygulanabilir olması, pitozis gibi potansiyel komplikasyonlarının olmaması, daha iyi bir kozmetik görünüm sağlaması sebebi ile konjonktiva fleplerine alternatif olarak AMT başarı ile uygulanmıştır (51). Band keratopatinin temizlenmesi ardından uygulanan AMT ile enflamasyonun baskılandığı ve korneanın saydamlığına kavuştuğu, ve beraberinde keratositlerin dejenerasyonunun baskılanabileceği bildirilmiştir (52).

Akut toksik epidermal nekrolizde kapakların

ve konjonktivanın cerrahisinde, vernal keratokonjonktivitlerde kalkan tarzı ülserlerin debridmanını takiben, ve keratoprotezlerde stabiliteyi arttırmak amacıyla da AM kullanılmıştır (53-55).

### **Lazer Cerrahisi**

Fotorefraktif keratektomilerde refraktif kusurun düzeltilmesinde, fototerapötik keratektomide yüzeyel kornea opasitelerinin ve yüzey düzensizliklerinin tedavisinde excimer lazer kullanılmaktadır. Ancak excimer lazer ile, özellikle yüksek dereceli refraktif kusurların düzeltilmesi sonrasında, korneanın şeffaflığında bozulma, bulanıklık ve tashihli en iyi görmede azalma gelişebilir. Excimer lazer sonrası AMT uygulanan tavşanlarda epitel iyileşmesinde hızlanma, enflamatuvar cevapta azalma ile daha az stroma infiltrasyonu ve keratosit kaybı olduğu, biyomikroskopik olarak daha az bulanıklık ve kornea lamellalarında daha düzenli dizilim gözlenmiştir (56,57).

### **Limbal Epitel Populasyonunun Ex Vivo Genişletilmesi**

Limbal kök hücre yetersizliğinde LKH transplantasyonu için aynı veya karşı tarafın gözünden otolog doku elde edilebilir. Ancak bu donör gözde sağlıklı limbal dokunun bulunmasını gerektirir. Eğer bu şart gerçekleşemezse bir yaşayan akrabadan veya kadavradan doku alınabilir. Ancak LKH transplantasyonu beraberinde immun red ihtimalini taşır ve operasyon sonrasında sistemik immunosupresyon gerekir.

AM, epitelizasyonu arttırdığı ve enflamasyonu azalttığı, konjonktiva bazal membranına benzediği, ve genellikle elde edilmesi kolay olduğu için avantajlıdır. Oküler yüzey hastalıklı kişilerde AM stabil bir ekstrasellüler matriks olarak limbal epitelyal hücrelerin ex vivo geliştirilmesi için kullanılmıştır (58). Ex vivo ortamda limbal dokunun genişletilmesinin avantajı daha az miktarda dokunun kullanılarak sağlıklı donör gözde daha az potansiyel risk yaratmasıdır. Ancak kültür edilen dokular oldukça frajildir ve manipülasyonu güçtür. Tsai ve ark. (59) tek taraflı oküler yüzey hastalığı olan 6 hastada 1x2 mm'lik

limbal epitel parçalarını AM kültürlerinde ekmişler ve bu limbal epitel dizilerini taşıyan AM'yi hasarlı gözlerle nakletmişlerdir. Kornea epitelinin tamamen epitelizasyonu 2 ile 4 gün içerisinde gerçekleşmiştir. Pellegrini ve ark. (60) 1x1 mm'lik limbus biyopsisi olarak doku kültür teknikleri ile elde ettikleri LKH'lerinin naklinden sonraki 2 yıl boyunca korneaların stabil kaldığını gözlemişlerdir.

AMT konvansiyonel kornea nakline göre elde edilmesinin kolaylığı, cerrahisinin daha rahat uygulanabilmesi, ve allogreft reddi olmaması gibi avantajlar taşır. Özellikle transplantasyon için kullanılacak kornea sağlanmasının kolay olmadığı ülkelerde oküler yüzeydeki enflamasyonun AMT ile baskılanmasını takiben çeşitli cerrahiler planlanabilir (61).

### **KAYNAKLAR**

1. Lee SH, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. *Am J Ophthalmol* 1997; 123: 303-12.
2. Kim JC, Tseng SC. Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit corneas. *Cornea* 1995; 14: 473-84.
3. Schwab IR, Isserhof RR. Bioengineered corneas-the promise and the challenge. *N Engl J Med* 2000; 343: 136-8.
4. Anderson DF, Ellies P, Pires RTF, Tseng SCG. Amniotic membrane transplantation for partial limbal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol* 2001; 85: 567-75.
5. Tseng SCG, 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: 431-41.
6. Sippel KC, Foster CS. Three pearls in amniotic membrane grafting. In: Melki SA and Azar DT, eds: 101 Pearls in Refractive, Cataract, and Corneal Surgery, Thorofare, NJ: SLACK, Inc, 2001: 125-30.
7. Fukuda K, Chikama T, Nakamura M, Nishida T. Differential distribution of subchains of the basement membrane components type IV collagen and laminin among the amniotic membrane, cornea, and conjonctiva. *Cornea* 1999; 18: 73-9.
8. 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.
9. Shimmura S, Shimazaki J, Ohashi Y, Tsubota K. Anti-inflammatory effects of amniotic membrane transplantation in ocular surface disorders. *Cornea* 2001; 20: 408-13.
10. Adds PJ, Hunt C, Harley S. Bacterial contamination of amniotic membrane. *Br J Ophthalmol* 2001; 85: 228-30.



11. Panda A. Amniotic membrane transplantation in ophthalmology (fresh v preserved tissue). *Br J Ophthalmol* 1999; 83: 1410-1.
12. Adds PJ, Hunt CJ, Dart JKG. Amniotic membrane grafts, "fresh" or frozen? A clinical and in vitro comparison. *Br J Ophthalmol* 2001; 85: 905-7.
13. Dua HS, Azuara-Blanco A. Amniotic membrane transplantation. *Br J Ophthalmol* 1999; 83: 748-52.
14. Uçakhan ÖÖ, Köklü G, Firat E. Nonpreserved human amniotic membrane transplantation in acute and chronic chemical eye injuries. *Cornea* 2002; 21: 169-72.
15. Kruse FE, Joussen AM, Rohrschneider K, You L, Sinn B, Baumann J, Volcker HE. Cryopreserved human amniotic membrane for ocular surface reconstruction. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2000; 238: 68-75.
16. Kruse FE, Rohrschneider K, Völcker HE. Multilayer amniotic membrane transplantation for reconstruction of deep corneal ulcers. *Ophthalmology* 1999; 106: 1504-11.
17. Gris O, Campo Z, Wolley-Dod C, Güell JL, Bruix A, Calatayud M, Adan A. Amniotic membrane implantation as a therapeutic contact lens for the treatment of epithelial disorders. *Cornea* 2002; 21: 22-7.
18. Letko E, Stechschulte SU, Kenyon KR, Sadeq N, Romero TR, Samson CM, et al. Amniotic membrane inlay and overlay grafting for corneal epithelial defects and stromal ulcers. *Arch Ophthalmol* 2001; 119: 659-63.
19. Azuara-Blanco A, Pillai CT, Dua HS. Amnion membrane transplantation for ocular surface reconstruction. *Br J Ophthalmol* 1999; 83: 399-402.
20. Gris O, Wolley-Dod C, Güell JL, Treserra F, Lerma E, Corcostegni B, Adan A. Histologic findings after amniotic membrane graft in the human cornea. *Ophthalmology* 2002; 109: 508-12.
21. Hanada K, Shimazaki J, Shimmura S, Tsubota K. Multilayered amniotic membrane transplantation for severe ulceration of the cornea and sclera. *Am J Ophthalmol* 2001; 131: 324-31.
22. Solomon A, Meller D, Prabhasawat P, John T, Espana EM, Steuhl KP, Tseng SCG. Amniotic membrane grafts for nontraumatic corneal perforations, descemetocelles, and deep ulcers. *Ophthalmology* 2002; 109: 694-703.
23. Chen HJ, Pires RT, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for severe neurotrophic corneal ulcers. *Br J Ophthalmol* 2000; 84: 826-33.
24. Meller D, Tseng SC. Conjunctival epithelial cell differentiation on amniotic membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40: 878-86.
25. Sippel KC, Ma JJK, Foster CS. Amniotic membrane surgery. *Curr Opin Ophthalmol* 2001; 12: 269-81.
26. 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: 2506-13.
27. 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.
28. Prabhasawat P, Tseng SC. Impression cytology study of epithelial phenotype of ocular surface reconstructed by preserved human amniotic membrane. *Arch Ophthalmol* 1997; 115: 1360-7.
29. Cho BJ, 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: 216-24.
30. Park WC, Tseng SC. Modulation of acute inflammation and keratocyte death by suturing, blood, and amniotic membrane in PRK. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 2906-14.
31. Katircioğlu YA, Budak K, Şalvarlı S, Duman S. Sembel-faron olgularında konjonktiva yüzey rekonstrüksiyonunda amnion membran transplantasyonu. *T Klin Oftalmoloji* 2002; 11: 57-61.
32. Meller D, Maksin SL, Pires RTF, Tseng SCG. Amniotic membrane transplantation for symptomatic conjunctivochalasis refractory to medical treatments. *Cornea* 2000; 19: 796-803.
33. Budenz DL, Barton K, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for leaking glaucoma filtering blebs. *Am J Ophthalmol* 2000; 130: 580-8.
34. Ma DH, See L, Liao S, Tsai RJ. Amniotic membrane graft for primary pterygium: comparison with conjunctival autograft and topical mitomycin C treatment. *Br J Ophthalmology* 2000; 84: 973-8.
35. Tekin NF, Kaynak S, Saatci AO, Cingil G. Preserved human amniotic membrane transplantation in the treatment of primary pterygium. *Ophthalmic Surg Lasers* 2001; 32: 464-9.
36. Prabhasawat P, Barton K, Burkett G, Tseng SC. Comparison of conjunctival autografts, amniotic membrane grafts, and primary closure of primary closure of pterygium excision. *Ophthalmology* 1997; 104: 974-85.
37. Solomon A, Pires RT, Tseng SCG. Amniotic membrane transplantation after extensive removal of primary and recurrent pterygia. *Ophthalmology* 2001; 108: 449-60.
38. Kobayashi A, Shirao Y, Segawa Y, Higashide T, Miwa S, Kawasaki K, Takata M, Tseng SCG. Multi-layer amniotic membrane graft for pterygium in a patient with Xeroderma pigmentosum. *Jpn J Ophthalmol* 2001; 45: 496-8.
39. Baum J. Amniotic membrane transplantation: Why is it effective? *Cornea* 2002; 21: 339-41.
40. Prabhasawat P, Tesavibul N, Komolsuradej W. Single and multilayered amniotic membrane transplantation for persistent corneal epithelial defect with and without stromal thinning and perforation. *Br J Ophthalmol* 2001; 85: 1455-63.
41. Duchesne B, Tahi H, Galand A. Use of human fibrin glue and amniotic membrane transplant in corneal perforation. *Cornea* 2001; 20: 230-2.
42. Holland EJ, Schwartz GS. Epithelial stem-cell transplantation for severe ocular-surface disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 1752-3.
43. Tsai RJ, Tseng SC. Effect of stromal inflammation on the outcome of limbal transplantation for corneal surface reconstruction. *Cornea* 1995; 14: 439-49.
44. Tsubota K, Satake Y, Ohyama M, Toda I, Takano Y, Ono

- M, Shinozaki N, Shimazaki J. Surgical reconstruction of the ocular surface in advanced ocular cicatricial pemphigoid and Stevens-Johnson syndrome. *Am J Ophthalmol* 1996; 122: 38-52.
45. Shimazaki J, Shimmura S, Fujishima H, Tsubota K. Association of preoperative tear function with surgical outcome in severe Stevens-Johnson syndrome. *Ophthalmology* 2000; 107: 1518-23.
46. Meller D, Pires RTF, Mack RJS, Figueiredo F, Heiligenhaus A, Park WC, et al. Amniotic membrane transplantation for acute chemical and thermal burns. *Ophthalmology* 2000; 107: 980-90.
47. Sridhar MS, Bansal AK, Sangwan VS, Rao GN. Amniotic membrane transplantation in acute chemical and thermal injury. *Am J Ophthalmol* 2000; 130: 134-37.
48. Joseph A, Dua HS, King AJ. Failure of amniotic membrane transplantation in the treatment of acute ocular burns. *Br J Ophthalmol* 2001; 85: 1065-9.
49. Ti S, Tow SLC, Chee S. Amniotic membrane transplantation in entropion surgery. *Ophthalmology* 2001; 108: 1209-17.
50. Fujishima H, Shimazaki J, Shinozaki N, Tsubota K. Trabeculectomy with the use of amniotic membrane for the uncontrollable glaucoma. *Ophthalmic Surg Lasers* 1998; 29: 428-31.
51. Pires RTF, Tseng SCG, Prabhasawat P, Puangsrichareon V, Maksin SL, Kim JC, Tan DTH. Amniotic membrane transplantation for symptomatic bullous keratopathy. *Arch Ophthalmol* 1999; 117: 1291-7.
52. Anderson DF, Prabhasawat P, Alfonso E, Tseng SCG. Amniotic membrane transplantation after the primary surgical management of band keratopathy. *Cornea* 2001; 20: 354-61.
53. John T, Fouls GN, John ME, Cheng K, Hu D. Amniotic membrane in the surgical management of acute toxic epidermal necrolysis. *Ophthalmology* 2002; 109: 351-60.
54. Sridhar MS, Sangwan VS, Bansal AK, Rao GN. Amniotic membrane transplantation in the management of shield ulcers of vernal keratoconjunctivitis. *Ophthalmology* 2001; 108: 1218-22.
55. Lee JH, Wee WR, Chung ES, Kim HY, Park SH, Kim YH. Development of a newly designed double-fixed Seoul-type keratoprosthesis. *Arch Ophthalmol* 2000; 118: 1673-8.
56. Park WC, Tseng SC. Modulation of acute inflammation and keratocyte death by suturing, blood, and amniotic membrane in PRK. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 2906-14.
57. Woo HM, Kim MS, Kweon OK, Kim DY, Nam TC, Kim JH. Effects of amniotic membrane on epithelial wound healing and stromal remodeling after excimer laser keratectomy in rabbit cornea. *Br J Ophthalmol* 2001; 85: 345-9.
58. Meller D, Pires RTF, Tseng SCG. Ex vivo preservation and expansion of human limbal epithelial stem cells on amniotic membrane cultures. *Br J Ophthalmol* 2002; 86: 463-71.
59. Tsai RJF, Li LM, Chen JK. Reconstruction of damaged corneas by transplantation of autologous limbal epithelial cells. *N Engl J Med* 2000; 343: 86-93.
60. Pellegrini G, Traverso CE, Franzi AT, Zingirion M, Concedda R, DeLuca M. Long-term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium. *Lancet* 1997; 349: 990-3.
61. Tseng SCG. Amniotic membrane transplantation for persistent corneal epithelial defect. *Br J Ophthalmol* 2001; 85:1400-1.

---

**Geliş Tarihi:** 28.08.2002

**Yazışma Adresi:** Dr.Rana Altan YAYCIOĞLU  
Başkent Üniversitesi, Adana Uygulama ve  
Araştırma Hastanesi, Göz Hastalıkları AD,  
raltanya@yahoo.com