

Transplante de membrana amniótica para reconstrução da superfície corneana e conjuntival *

Amniotic membrane transplantation for corneal and conjunctival surface reconstruction

Renato T. Ferreira Pires^(1,3), José Luis T. Ferreira Pires⁽³⁾, Scheffer C. G. Tseng^(1,2)

INTRODUÇÃO

A superfície ocular é revestida pelo epitélio corneano, límbico e conjuntival, cada um com um fenótipo celular distinto. A conjuntiva reveste as superfícies internas das pálpebras superior e inferior, e cobre a episclera e a esclera anterior antes de terminar no epitélio do limbo, que é a transição entre os epitélios corneano e conjuntival. O epitélio corneano, juntamente com o filme lacrimal contribuem para a manutenção da superfície opticamente regular da córnea, promovendo uma visão nítida e adequada. Para assegurar uma superfície ocular íntegra é necessário que esta esteja constantemente coberta por um filme lacrimal estável. Recentemente, cinco importantes conceitos foram relatados para explicar como um sistema de defesa eficaz e organizado é estabelecido para se atingir este objetivo¹. Estes cinco conceitos são: [1] O bom estado da superfície ocular é assegurado por uma estreita relação entre o epitélio da superfície ocular e o filme lacrimal; [2] A estabilidade do filme lacrimal é mantida por anexos externos; [3] O mecanismo de proteção em sua íntegra é controlado por uma integração neuroanatômica eficaz; [4] As células germinativas (CG) epiteliais corneanas estão localizadas no limbo; [5] A função das células epiteliais da superfície ocular é mantida pela matriz e por fibroblastos do estroma.

Superfície Ocular Íntegra

A integração do epitélio da superfície ocular com o filme lacrimal promove uma superfície ocular saudável, prevenindo olho seco, desconforto ou infecções oculares. O filme lacrimal é constituído de lipídios produzidos pelas glândulas de Meibomius, camada lacrimal aquosa que é produzida principalmente pelas glândulas lacrimais, e de mucinas que são produzidas pelas células epiteliais da superfície ocular. Hidrodinamicamente, o filme lacrimal se espalha por toda a superfície ocular durante o freqüente e completo movimento de piscar das pálpebras. Portanto, para se alcançar um filme lacrimal estável é essencial que haja participação destes anexos e da pálpebra. Tanto o mecanismo hidrodinâmico quanto a composição da lágrima estão integrados com o epitélio da superfície ocular através de dois reflexos neuroanatômicos, os quais são controlados pelo primeiro ramo do nervo trigêmeo responsável pela sensibilidade ocular (parte aferente), e pelo ramo parassimpático e motor do nervo facial (parte eferente).

O epitélio da superfície ocular além de ser constantemente protegido por um filme lacrimal estável, também participa ativamente na formação da estabilidade deste filme. Este fato é sustentado pela liberação de gel formador de mucina pelas células conjuntivais caliciformes, o qual é um dos importantes componentes do filme lacrimal². Além disso, ambas as células epiteliais corneanas e as conjuntivais não caliciformes apresentam mucina nas suas superfícies, mantendo-se umidificadas^{3,4}. Também, o epitélio corneano e o conjuntival apresentam um grupo diferente de ceratinas daquelas da epiderme ceratinizada⁵⁻⁷. Associando estes achados, sugere-se que tanto a presença de mucina quanto a não ceratinização são os principais fatores do perfil fenotípico epitelial responsáveis em manter o epitélio da superfície ocular úmido.

Diferenciações terminais normais das células epiteliais superficiais dependem de um fornecimento contínuo da proliferação de células germinativas. Um grande avanço na biologia celular epitelial da superfície ocular é o reconhecimento que as células germinativas são a última fonte de regeneração epitelial⁸. As células germinativas do epitélio corneano foram identificadas no limbo⁹, e acredita-se que as do epitélio conjuntival estão localizadas no fórnix^{10,11} ou na junção

⁽¹⁾ Cornea, Ocular Surface and Tear Center, Department of Ophthalmology, Bascom Palmer Eye Institute.

⁽²⁾ Department of Cell Biology and Anatomy, University of Miami School of Medicine, Miami, Florida, USA.

⁽³⁾ Mestrando, Universidade Federal de Goiás. Médico do Departamento de Córnea e Doenças Externas, Catarata e Cirurgia Refrativa do Instituto de Olhos de Goiânia, Goiás. Apoio do "Unrestricted grant from Research to Prevent Blindness, Inc., New York, New York".

"SCGT has filed a patent for the method and uses of amniotic membrane".

Endereço para correspondência: Renato T. Ferreira Pires, Scheffer C. G. Tseng, Cornea, Ocular Surface and Tear Center, Bascom Palmer Eye Institute, William L. McKnight Vision Research Center, 1638 NW 10th Ave. Miami, FL 33136, USA. Fax: (305) 326-6306. e-mail: tfpires@zaz.com.br / stseng@bpei.med.miami.edu

* O nº 5 dos ABO's (setembro/outubro/99) trará o artigo "Membrana amniótica na reconstrução da superfície ocular nas ceratoconjuntivites cicatríciais" que apresentará os resultados do transplante de membrana amniótica realizados no Brasil em pacientes com doenças cicatríciais da conjuntiva.

mucocutânea da margem palpebral¹². Além disso, aumentam-se as evidências de que estas células são reguladas pelos fibroblastos estromais subjacentes⁸, e que a membrana basal faz um papel importante modificando as interações epitélio-mesenquimais, o que indiretamente afeta as funções epiteliais.

Estes cinco conceitos indicam que uma superfície ocular saudável é controlada por fatores extrínsecos, os quais mantêm a defesa da superfície ocular proporcionando um filme lacrimal estável, e por fatores intrínsecos, os quais regulam as células germinativas epiteliais.

Falência da Superfície Ocular

Dois principais tipos de falência da superfície ocular têm sido identificados pelo exame de citologia de impressão, baseado no fenótipo epitelial. Uma dessas falências mostra a transição patológica do epitélio da superfície ocular não ceratinizado normal em epitélio ceratinizado, num processo denominado metaplasia escamosa¹³. Na conjuntiva, este processo ocorre com perda das células caliciformes. A metaplasia escamosa pode ser causada extrinsecamente por um filme lacrimal instável, como resultado de uma defesa insuficiente da superfície ocular^{1,14}, e também pode ser intrinsecamente associada com várias formas de ceratoconjuntivite cicatricial como queimaduras químicas, síndrome de Stevens-Johnson, penfigóide cicatricial ocular, etc. A patogênese da metaplasia escamosa causada por estas patologias ainda é desconhecida e está altamente relacionada com intensa inflamação estromal ou falta de suplemento vascular, o qual resulta em tecido cicatricial¹⁵.

O segundo tipo de falência da superfície ocular é caracterizado por uma troca do perfil fenotípico epitelial corneano normal por um epitélio conjuntival invasivo, num processo denominado deficiência límbica (deficiência de células germinativas do limbo)¹⁶. Doenças corneanas com deficiência de limbo são caracterizadas por vascularização, inflamação crônica, integridade epitelial pobre manifestada por diferentes extensões de invasão do epitélio conjuntival (também denominado conjuntivização) sobre a córnea, superfície irregular, erosão recorrente, úlcera persistente, destruição da membrana basal e crescimento de tecido fibroso. Pacientes com deficiência límbica geralmente sofrem de fotofobia severa e diminuição da visão, e geralmente não são bons candidatos ao transplante de córnea convencional, pois este oferece apenas células amplificadoras de transição corneana (CAT) com curto tempo de vida. Além disso, vascularização corneana pré existente e inflamação aumentam o risco de rejeição de transplante alogênico⁸.

A citologia de impressão, como meio diagnóstico, tem detectado deficiência límbica em inúmeras doenças corneanas. O sinal patognomônico da deficiência límbica, denominada conjuntivização¹⁶ é verificado através deste exame.

Estas doenças podem ser divididas em dois grupos principais (Quadro 1): O grupo I é caracterizado por ter causa patogênica definida através da história clínica, a qual destrói as células germinativas do limbo. Esta destruição pode ser causada

Quadro I. Doenças corneanas caracterizadas por deficiência límbica

I. Aplasia: perda da população de células germinativas do limbo por destruição primária

- ◆ Injúrias químicas ou térmicas
- ◆ Síndrome de Stevens-Johnson ou necrólise epidérmica tóxica
- ◆ Múltiplas cirurgias ou crioterapias no limbo (iatrogênica)
- ◆ Toxicidade aos anti-metabólicos (5-FU)
- ◆ Ceratopatia induzida por lente de contato
- ◆ Infecção microbiana severa

II. Hipofunção: disfunção do meio estromal das células germinativas do limbo

- ◆ Aniridia (hereditária)
- ◆ Ceratite associada à deficiência endócrina múltipla (hereditária)
- ◆ Ceratopatia neurotrófica (Neuronal ou isquêmica)
- ◆ Ceratopatia induzida por radiação
- ◆ Inflamação e ulceração corneana periférica ou limbite crônica
- ◆ Pterígio e pseudopterígio
- ◆ Idiopática

[Observação]: Usando a citologia de impressão como meio diagnóstico e a conjuntivização corneana como critério diagnóstico da deficiência de limbo¹⁶, várias doenças corneanas têm sido identificadas como portadoras de deficiência de limbo. Essas doenças podem ser subdivididas em dois principais grupos, o grupo I com perda de células germinativas do limbo e o grupo II com disfunção do estroma do limbo. (Modificado com a permissão da revista *Ophthalmology*, 102:1476-1485, 1995. Cortesia de *Ophthalmology*).

da por injúrias químicas ou térmicas, síndrome de Stevens-Johnson, múltiplas cirurgias ou crioterapias na região do limbo, toxicidade aos anti-metabólicos (5-FU), uso de lentes de contato ou infecções microbianas graves. As doenças corneanas causadas por múltiplas cirurgias, crioterapias e medicações tóxicas são também classificadas como “iatrogênicas”¹⁷. A identificação deste grupo justifica a indicação do transplante de células germinativas do limbo^{18,19}. O transplante autólogo de limbo mostrou ser mais eficiente para restaurar a superfície corneana do que o transplante conjuntival²⁰, clinicamente, tem sido realizado com sucesso na reconstrução da superfície corneana de pacientes com doenças do grupo I, especialmente naqueles com deficiência de limbo unilateral ou focal²¹⁻²⁹. Para aqueles com deficiência de limbo difusa e bilateral a reconstrução da superfície corneana é realizada com tecido de origem tanto de doadores vivos HLA-semelhantes^{26, 27, 30} como de cadáveres HLA-não semelhantes^{26, 31-33}. Neste caso, o uso sistêmico de ciclosporina é necessário para a prevenção de rejeição em potencial do transplante alogênico de limbo, mesmo assim, por razões ainda não bem definidas o índice de sucesso desse enxerto diminui com o passar do tempo.

Em contraste, as doenças do grupo II não têm uma história clínica bem definida como no primeiro grupo, mas apresentam uma perda gradual das funções das células germinativas do limbo com o passar do tempo. É notado que as doenças do grupo II apresentam como causas diversas: aniridia; ceratite associada com deficiências endócrinas múltiplas; ceratopatia neurotrófica; inflamação periférica, ceratite ulcerativa ou limbite; ceratopatia idiopática; pterígio ou pseudopterígio. A

ceratopatia induzida por radiação pode ser temporária e reversível³⁴, por isso o suporte clínico sempre se inicia com medicamentos e não com procedimentos cirúrgicos. Como estas doenças do grupo II não têm uma história clínica bem definida e apresentam uma perda gradual da função das células germinativas, como descrito acima, acredita-se que a função destas células pode ser modulada por fatores hormonais, neuronais, vasculares e inflamatórios em progressão no meio estromal do limbo, e consequentemente a disfunção do estroma do limbo pode resultar em deficiência límbica. Além disso, sugere-se também que estes achados patológicos podem alterar o estroma e indiretamente afetar as funções epiteliais. Novos estudos serão necessários para explorar o mecanismo pelo qual as funções das células germinativas do limbo são reguladas pelo meio estromal.

MECANISMOS DE AÇÃO DO TRANSPLANTE DE MEMBRANA AMNIÓTICA

A membrana amniótica, ou âmnion, camada interna da placenta, consiste de uma membrana basal densa e matriz estromal avascular. O transplante de membrana amniótica tem sido descrito para a reconstrução de estruturas em diferentes sub-especialidades médicas³⁵. Na literatura em inglês, a membrana placentária sem preservação, incluindo âmnion e córion foi primeiro usada por De Roth em 1940 para a reconstrução da superfície conjuntival³⁶. Retrospectivamente, observamos que foi devido ao método de preparação e inclusão do córion, a causa de não se obter um resultado satisfatório, e consequentemente explica porque este procedimento não foi seguido por outros especialistas. O transplante de membrana amniótica foi recentemente reintroduzido para utilização em procedimentos oftalmológicos por Kim e Tseng³⁷ em 1995. Como descrito a seguir, resultados encorajadores têm sido relatados por diferentes pesquisadores, atribuídos presumivelmente pela melhora dos métodos de processamento e preservação. A membrana amniótica pode ser utilizada como uma matriz para recuperar o estroma danificado da superfície ocular em diferentes indicações clínicas.

Os recentes trabalhos científicos indicam que os mecanismos de ação em potencial são os seguintes: a membrana basal da membrana amniótica é um substrato ideal para garantir o crescimento e o desenvolvimento de células epiteliais germinativas, prolongando o seu período de vida e mantendo sua capacidade de produzir colônias (clonogenicidade).³⁸ Este mecanismo explica porque o transplante de membrana amniótica pode ser usado para expandir células germinativas do limbo e células amplificadoras de transição da córnea durante o tratamento da deficiência límbica parcial³⁹, e facilitar a epitelização nos defeitos epiteliais corneanos persistentes com ulceração estromal⁴⁰⁻⁴². Em cultura de tecidos, a membrana amniótica suporta o crescimento de células epiteliais do limbo através de cultura de explantes, e em seguida a membrana amniótica com células epiteliais pode ser transplantada

para a reconstrução da superfície corneana afetada⁴³. A membrana amniótica pode ser usada também para promover a diferenciação de células não caliciformes do epitélio conjuntival⁴⁴, e o co-cultivo com fibroblastos conjuntivais na membrana basal da membrana amniótica favorece a diferenciação das células caliciformes conjuntivais³⁸. Esses dados explicam porque a densidade das células de “goblet” é aumentada após o transplante de membrana amniótica “in vivo”⁴⁵.

O lado do estroma da membrana amniótica contém componentes raros da matriz, os quais suprimem a sinalização de TGF- β proliferação e diferenciação miofibroblástica de fibroblastos da córnea e do limbo⁴⁶. Esta ação explica porque o transplante de membrana amniótica ajuda a reduzir a formação de tecido cicatricial durante a reconstrução da superfície conjuntival⁴⁷, a prevenir a recorrência de tecido cicatricial após a remoção de pterígio⁴⁸ e a reduzir o “haze” corneano após PTK e PRK^{49, 50}. Embora esta ação seja mais efetiva quando os fibroblastos estão em contato com a matriz estromal, um efeito menor é também notado quando os fibroblastos estão separados e distantes da membrana, sugerindo assim que fatores difusíveis devem também estar envolvidos, além da presença dos componentes insolúveis da matriz na membrana. Juntamente com esses achados, vários fatores de crescimento têm sido identificados na membrana amniótica⁵¹. Estudos futuros serão necessários para determinar com exatidão este mecanismo de ação.

A matriz do estroma da membrana contém vários inibidores de protease⁵², podendo também debelar as células inflamatórias levando-as para rápida apoptose^{49, 53}. Esta ação da membrana amniótica explica porque a inflamação do estroma^{40, 47} e a neovascularização corneana⁵⁴ são reduzidas após o transplante de membrana amniótica, e é importante ressaltar que este mecanismo de ação prepara o estroma para receber as células germinativas do limbo transplantadas no mesmo ato cirúrgico ou posteriormente^{39, 55-57}. Esta ação também explica porque a apoptose de ceratócitos pode ser reduzida e consequentemente o “haze” estromal é prevenido em PRK ou PTK pela membrana amniótica^{49, 53}.

USOS CLÍNICOS DO TRANSPLANTE DE MEMBRANA AMNIÓTICA

Para a reconstrução da superfície conjuntival

Os mecanismos de ação sintetizados no quadro II ajudam a explicar porque o transplante de membrana amniótica pode facilitar a epitelização, manter o fenótipo epitelial normal (com células caliciformes quando realizado na conjuntiva⁴⁵, e reduzir inflamação, vascularização e cicatrização. Baseado nesses efeitos terapêuticos, o transplante de membrana amniótica pode ser indicado para a reconstrução da superfície conjuntival com a finalidade de restaurar o estroma e produzir uma membrana basal saudável para a proliferação e diferenciação epitelial.

Os trabalhos relatados mostram que o transplante de mem-

Quadro II. Mecanismos de ação e efeitos observados no transplante de membrana amniótica

Mecanismos de ação

- Prolonga o período de vida e preserva a capacidade das células germinativas epiteliais de produzir colônias.
- Promove a diferenciação das células não caliciformes epiteliais.
- Promove a diferenciação das células caliciformes quando combinadas com fibroblastos conjuntivais.
- Elimina células inflamatórias através de atividades anti-protease.
- Suprime o sistema de sinalização de TGF- β e a diferenciação miofibroblástica dos fibroblastos normais.

Efeitos clínicos observados

- Facilita epiteliação.
- Mantém o perfil fenotípico epitelial normal.
- Reduz inflamação.
- Reduz vascularização.
- Reduz cicatrização.

[Observação]: TGF- β : Fator de crescimento transformador β .

brana amniótica pode ser indicado para a reconstrução da superfície conjuntival como uma alternativa ao enxerto conjuntival para a remoção de extensas lesões conjuntivais

como pterígio^{48, 57}, neoplasia intra-epitelial da conjuntiva e tumores⁴⁷, tecido cicatricial e simbléfaro^{47, 58}, e conjuntivocalase⁴⁷. Esses resultados indicam que a área reconstruída pode ser extensa, evitando assim que o tecido subjacente seja isquêmico e permitindo que a borda conjuntival tenha um epitélio e um estroma subconjuntival normais (Figura 1). Estudos futuros serão necessários para determinar se a reconstrução pode ser realizada transplantando a membrana amniótica contendo células germinativas conjuntivais expandidas, com ou sem fibroblastos conjuntivais normais.

Para a reconstrução da superfície corneana

Após o diagnóstico confirmado de deficiência límbica, novas condutas como o transplante de membrana amniótica e o transplante de células germinativas do limbo são indicados^{39, 55, 56}. O transplante de membrana é indicado com a intenção de restaurar o estroma do limbo afetado, e o de limbo é para restaurar a população de células germinativas. Nossas recentes experiências clínicas mostraram que estes procedimentos combinados são eficazes para tratar grandes extensões de deficiência límbica de acordo com os seguintes parâmetros: ausência de células

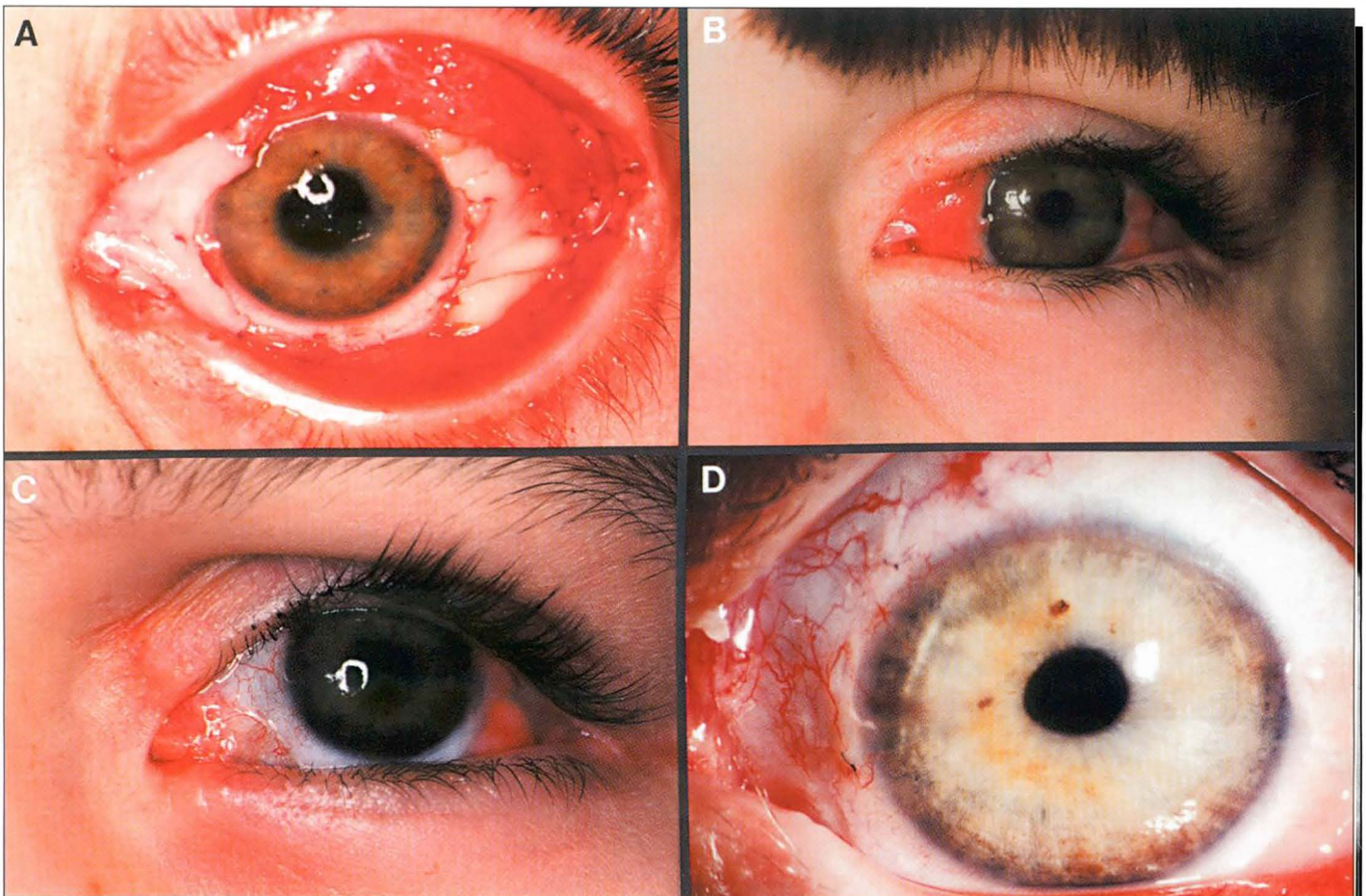


Fig. 1 - A) Pós-operatório de cirurgia de reconstrução da superfície conjuntival, com mucosa labial, para injúria por fórceps ao nascimento. B) Pré-operatório de TMA, mostrando tecido cicatricial. C) 6 meses de pós-operatório de TMA. D) 12 meses de pós-operatório de TMA, mostrando ausência de tecido cicatricial com superfície ocular íntegra. TMA: Transplante de membrana amniótica. (Modificado com a permissão de Elsevier Science da revista *American Journal of Ophthalmology*, 124:765-774, 1997).

Quadro III. Tratamento clínico e cirúrgico para deficiência límbica.

I. Se a deficiência límbica for parcial e focal, e se CAT corneano suficiente estiver presente no centro da córnea:

1. Evitar atritos para a CAT remanescente:

- Evitar o uso de medicamentos tóxicos, debridamento cirúrgico da CAT corneana e ceratoplastia lamelar ou penetrante;
- Considerar esteróides tópicos sem preservativo, lubrificantes oculares e o uso de lente de contato terapêutica.

2. Promover o crescimento da CAT remanescente e CG do limbo.

- Considerar o debridamento do epitélio conjuntival invasor.
- Considerar o transplante de membrana amniótica.

II. Se a deficiência límbica for difusa, mas se o envolvimento corneano for superficial e se tiver CAT corneano insuficiente na córnea central (defeito epitelial central):

- Considerar o transplante de membrana amniótica com transplante alogênico de limbo proveniente de cadáveres ou de familiares vivos, juntamente com ciclosporina A sistêmica (primeira opção), ou transplante de membrana amniótica com transplante autólogo de limbo (em casos de falência do transplante alogênico de limbo e envolvimento unilateral).

III. Se a deficiência límbica for difusa e severa, e se o envolvimento corneano for profundo:

- Considerar primeiro o transplante de membrana amniótica para restaurar o meio estromal peri-límbico;
- Realizar transplante de limbo proveniente de cadáveres ou de familiares vivos, combinado com ceratoplastia lamelar profunda ou ceratoplastia penetrante juntamente com ciclosporina A sistêmica.

[Observação]: O esquema do quadro III é proposto de acordo com a extensão da deficiência límbica, presença ou ausência de CAT central e pela profundidade do envolvimento corneano. CG: Células germinativas; CAT: Células amplificadoras de transição da córnea.

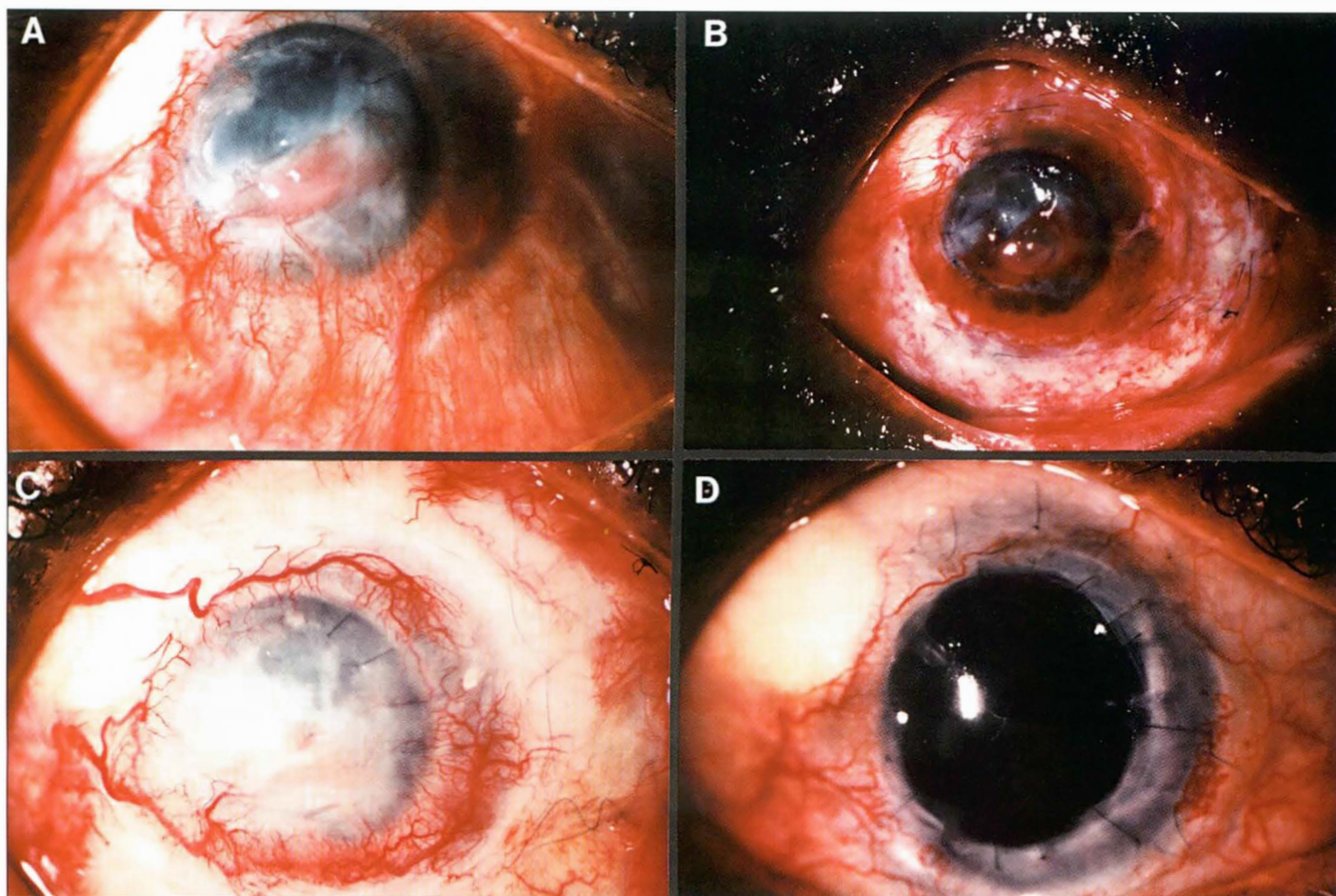


Fig. 2 - A) Pré-operatório por queimadura química, 14 meses após ter realizado TL com rejeição. B) 1 dia de pós-operatório de TMA. C) 7 semanas de pós-operatório de TMA, mostrando diminuição de sinais inflamatórios da superfície ocular. D) 12 meses de pós-operatório de TC combinado com TL. TL: Transplante de limbo; TMA: Transplante de membrana amniótica; TC: Transplante penetrante de córnea. (Modificado com a permissão da revista *Archives of Ophthalmology*, 116:431-441, 1998. Copyright 1998, American Medical Association).

amplificadoras de transição e profundo envolvimento na área central da córnea. Os procedimentos propostos para o tratamento clínico e cirúrgico estão sintetizados no quadro III.

Um dos principais avanços realizado pelo transplante de membrana amniótica foi o fato da deficiência límbica parcial poder ser reconstruída por esta técnica sem o uso do transplante de limbo³⁹. Na época em que não se tinham explicações concretas, estes resultados foram primeiramente observados em experimentos com coelhos³⁷, indicando que pacientes com deficiência límbica parcial podem ser tratados sem o uso prolongado de ciclosporina oral. O segundo avanço é o baixo índice de rejeição do limbo quando ciclosporina sistêmica é necessária nos casos de transplante de membrana amniótica combinado com transplante alogênico de limbo (Figura 2). Este efeito é atribuído talvez à restauração do estroma do limbo sem inflamação. A dificuldade ainda encontrada naqueles pacientes que sofrem de deficiência límbica severa e profunda e que necessitam também de transplante de córnea, é o fato de ocorrer freqüentemente rejeição do enxerto corneano concomitante.

A membrana amniótica também pode ser utilizada para o tratamento de doenças da superfície corneana tanto como "patch" quanto como enxerto, por um período curto ou prolongado. Experimentalmente, quando usada como "patch" por um período curto, esta membrana demonstrou ser capaz de reduzir o "haze" corneano após PRK ou PTK⁴⁹.

A membrana amniótica pode promover a cura de úlceras corneanas persistentes de etiologias diferentes (Figura 3), incluindo a ceratopatia neurotrófica^{40, 41}. Além dos efeitos já mencionados, este procedimento pode ter uma melhor indicação que o recobrimento conjuntival ou a tarsorrafia, pois preserva uma aparência cosmeticamente mais aceita.

Um recente estudo multicêntrico mostra que o transplante de membrana amniótica pode ser usado para tratar ceratopatia bolhosa sintomática causada pela cirurgia de catarata ou falência de transplante de córnea (Tseng e col., trabalho em fase de publicação, 1998). Antes da cirurgia os pacientes referem dor, apresentam erosão recorrente e podem desenvolver um quadro de infecção corneana.

É necessário lembrar que as defesas da superfície ocular

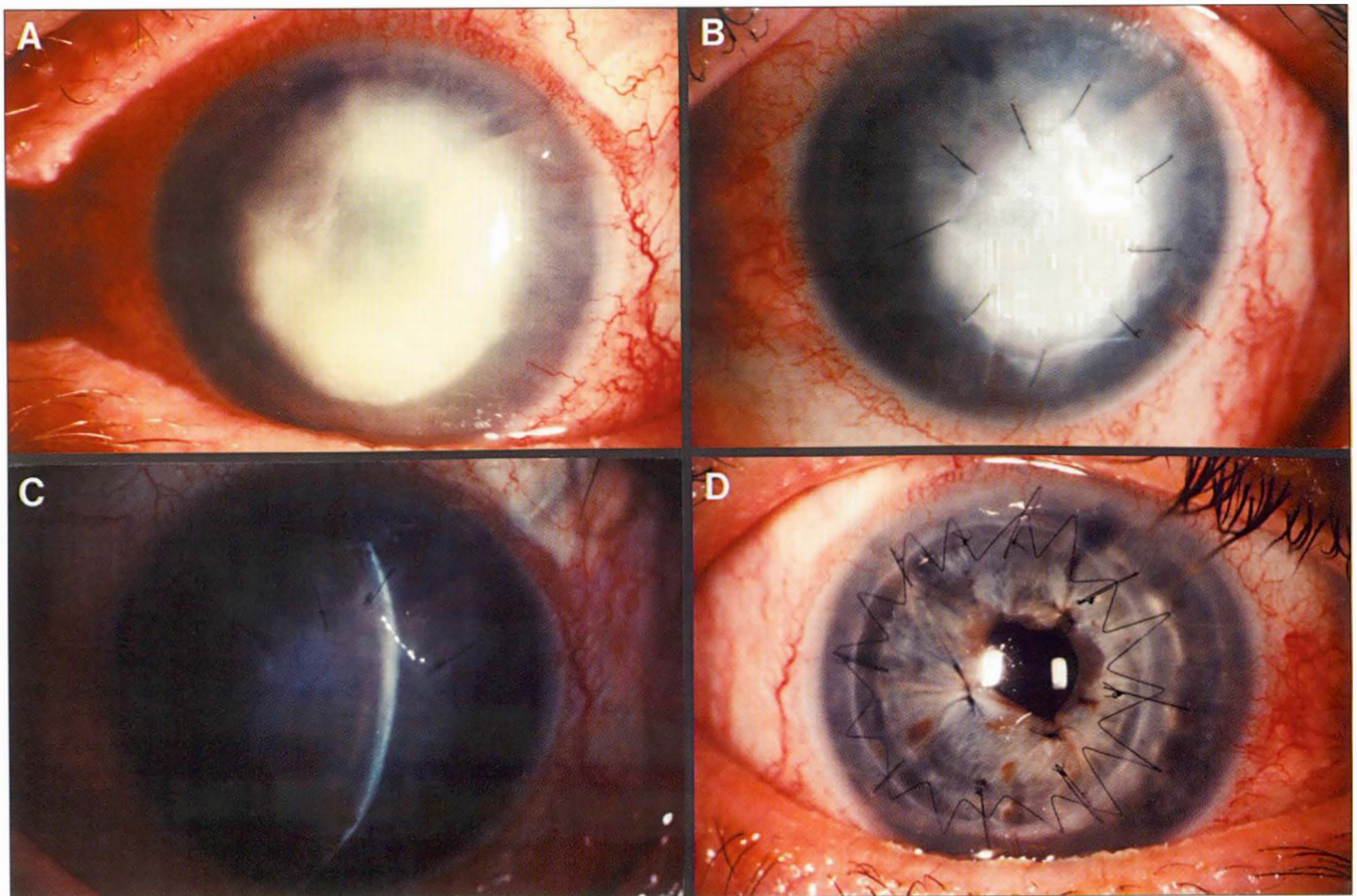


Fig. 3 - A) Pré-operatório mostrando defeito epitelial persistente com ulceração, secundário a úlcera infecciosa e ceratoconjuntivite por herpes simples. Foi observada extensa área de ulceração. B) Pós-operatório de TMA de 1 semana evidenciou regressão da ulceração. C) 3 meses após a cirurgia notou-se membrana amniótica mais transparente. D) 4 meses após TMA, foi realizado TC combinado com EECC/LIO. TMA: Transplante de membrana amniótica; TC: Transplante penetrante de córnea; (Modificado com a permissão da revista *Archives of Ophthalmology*, 116:431-441, 1998. Copyright 1998, American Medical Association).

devem ser restauradas prévia ou simultaneamente à reconstrução da superfície ocular pelo transplante de membrana amniótica com ou sem o transplante de células germinativas do limbo. Incluem-se nestas medidas a oclusão do ponto lacrimal ou o uso de colírio especial preparado com o soro do paciente para deficiência lacrimal aquosa severa⁵⁵, correção plástica da margem palpebral e de problemas envolvendo os cílios, e tarsorrafia para evitar a exposição da superfície ocular. Pacientes com olhos secos severos, ceratinização difusa e isquemia estromal continuam como casos difíceis de serem tratados, muitas vezes levando à contra-indicação da cirurgia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tseng SCG, Tsubota K. Important concepts for treating ocular surface and tear disorders. *Am J Ophthalmol* 1997;124:825-35.
2. Inatomi T, Spurr-Michaud SJ, Tisdale AS, Zhan Q, Feldman ST, Gipson IK. Expression of secretory mucin genes by human conjunctival epithelia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:1684-92.
3. Inatomi T, Spurr-Michaud SJ, Tisdale AS, Gipson IK. Human corneal and conjunctival epithelia express MUC1 mucin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:1818-27.
4. Price-Schiavi SA, Jing X, Tseng SCG, Carraway KL. Expression of sialomucin complex, a heteromeric multifunctional mucin in normal rat eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:S535.
5. Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins. Patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1982;31:11-24.
6. Galvin S, Loomis C, Manabe M, Dhoulail D, Sun TT. The major pathways of keratinocyte differentiation as defined by keratin expression, an overview. *Adv Dermatol* 1989;4:277-99.
7. Tseng SCG, Hatchell D, Tierney N, Huang AJW, Sun T-T. Expression of specific keratin markers by rabbit corneal, conjunctival, and esophageal epithelia during vitamin A deficiency. *J Cell Biol* 1984;99:2279-86.
8. Tseng SCG. Regulation and clinical implications of corneal epithelial stem cells. *Mol Biol Rep* 1996;23:47-58.
9. Schermer A, Galvin S, Sun T-T. Differentiation-related expression of a major 64K corneal keratin in vivo and in culture suggests limbal location of corneal epithelial stem cells. *J Cell Biol* 1986;103:49-62.
10. Wei Z-G, Wu R-L, Lavker RM, Sun TT. In vitro growth and differentiation of rabbit bulbar, fornix, and palpebral conjunctival epithelia. Implication on conjunctival epithelial transdifferentiation and stem cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993;34:1814-23.
11. Wei Z-G, Cotsarelis G, Sun TT, Lavker RM. Label retaining cells are preferentially located in fornical epithelium: Implications on conjunctival epithelial homeostasis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;36:236-46.
12. Wirtshafter JD, McLoon LK, Ketcham JM, Weinstock RJ, Cheung JC. Palpebral conjunctival transient amplifying cells originate at the mucocutaneous junction and their progeny migrate toward the fornix. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1997;95:417-32.
13. Tseng SCG. Staging of conjunctival squamous metaplasia by impression cytology. *Ophthalmology* 1985;92:728-33.
14. Tseng SCG. Ocular surface changes in Sjogren's syndrome. In: Homma M, Sugai S, Tojo T, Miyasaka N, Akizuki M, eds. *Sjogren's syndrome, State of the art, Proceedings of the Fourth International Symposium on Sjogren Syndrome*. Amsterdam/New York: Kugler Publications 1994:21-6.
15. Tseng SCG, Hirst LW, Maumenee AE, Kenyon KR, Sun T-T, Green WR. Possible mechanisms for the loss of goblet cells in mucin deficient disorders. *Ophthalmology* 1984;91:545-52.
16. Puangsricharn V, Tseng SCG. Cytologic evidence of corneal diseases with limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology* 1995;102:1476-85.
17. Schwartz GS, Holland EJ. Iatrogenic limbal stem cell deficiency. *Cornea* 1998;7:31-7.
18. Tseng SCG, Chen JY, Huang AJW, Kruse FE, Maskin SL, Tsai RJF. Classification of conjunctival surgeries for corneal disease based on stem cell concept. *Ophthalmol Clin North Am* 1990;3:595-610.
19. Holland EJ, Schwartz GS. The evolution of epithelial transplantation for severe ocular surface disease and a proposed classification system. *Cornea* 1996;15:549-56.
20. Tsai RJF, Sun TT, Tseng SCG. Comparison of limbal and conjunctival autograft transplantation for corneal surface reconstruction in rabbits. *Ophthalmology* 1990;97:446-55.
21. Kenyon KR, Tseng SCG. Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders. *Ophthalmology* 1989;96:709-23.
22. Copeland RA, Char DH. Limbal autograft reconstruction after conjunctival squamous cell carcinoma. *Am J Ophthalmol* 1990;110:412-5.
23. Kenyon KR. Limbal autograft transplantation for chemical and thermal burns. *Dev Ophthalmol* 1989;18:53-8.
24. Jenkins C, Tuft S, Liu C, Buckley R. Limbal transplantation in the management of chronic contact-lens-associated epitheliopathy. *Eye* 1993;7:629-33.
25. Ronk JF, Ruiz-Esmenjaud S, Osorio M, Bacigalupi M, Goosey JD. Limbal conjunctival autograft in a subacute alkaline corneal burn. *Cornea* 1994;13:465-8.
26. Tan DTH, Ficker LA, Buckley RJ. Limbal transplantation. *Ophthalmology* 1996;103:29-36.
27. Holland EJ. Epithelial transplantation for the management of severe ocular surface disease. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1996;94:677-743.
28. Mashima Y, Yamada M, Yamada H, Tsunoda K, Arimoto M. Limbal autograft transplantations for chronic ocular surface failure. *Jpn J Clin Ophthalmol* 1993;47:607-10.
29. Morgan S, Murray A. Limbal autotransplantation in the acute and chronic phases of severe chemical injuries. *Eye* 1996;10:349-54.
30. Kenyon KR, Rapoza PA. Limbal allograft transplantation for ocular surface disorders. *Ophthalmology* 1995;102(Suppl):101-2.
31. Tsai RJF, Tseng SCG. Human allograft limbal transplantation for corneal surface reconstruction. *Cornea* 1994;13:389-400.
32. Tsubota K, Toda I, Saito H, Shinozaki N, Shimazaki J. Reconstruction of the corneal epithelium by limbal allograft transplantation for severe ocular surface disorders. *Ophthalmology* 1995;102:1486-96.
33. Theng JTS, Tan DTH. Combined penetrating keratoplasty and limbal allograft transplantation for severe corneal burns. *Ophthalm Surg Lasers* 1997;28:765-8.
34. Fujishima H, Shimazaki J, Tsubota K. Temporary cornea stem cell dysfunction after radiation therapy. *Br J Ophthalmol* 1996;80:911-4.
35. Trelford JD, Trelford-Sauder M. The amnion in surgery, past and present. *Am J Obstet Gynecol* 1979;134:833-45.
36. De Roth A. Plastic repair of conjunctival defects with fetal membrane. *Arch Ophthalmol* 1940;23:522-5.
37. Kim JC, Tseng SCG. Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit corneas. *Cornea* 1995;14:473-84.
38. Meller D, Tseng SCG. In vitro conjunctival epithelial differentiation on preserved human amniotic membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:S428.
39. 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.
40. Lee S-H, Tseng SCG. Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. *Am J Ophthalmol* 1997;123:303-12.
41. Taylor RJ, Wang MX. Rate of re-epithelialization following amniotic membrane transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:S1038.
42. Azuara-Blanco A, Pillai CT, Sarhan A, Dua HS. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:S428.
43. Tsai RJF. Corneal surface reconstruction by amniotic membrane with cultivated autologous limbo-corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39, S429.
44. Cho B, Djalilian AR, Obrecht WF, Matteson DM, Chan CC, Holland EJ. Conjunctival epithelial cells cultured on human amniotic membrane do not transdifferentiate into corneal epithelial type cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39,S428.
45. Prabhasawat P, Tseng SCG. Impression cytology study of epithelial phenotype of ocular surface reconstructed by preserved human amniotic membrane. *Arch Ophthalmol* 1997;115:1360-7.
46. Tseng SCG, Li D-Q, Ma X. Downregulation of TGF- β 1, β 2, β 3 and TGF- β receptor II expression in human corneal fibroblasts by amniotic membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39, S428.
47. Tseng SCG, Prabhasawat P, Lee S-H. Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. *Am J Ophthalmol* 1997;124:765-74.

48. Prabhasawat P, Barton K, Burkett G, Tseng SCG. Comparison of conjunctival autografts, amniotic membrane grafts and primary closure for pterygium excision. *Ophthalmology* 1997;104:974-85.
49. Wang MX, Gray T, Park WC, et al. Corneal haze and apoptosis is reduced by amniotic membrane matrix in excimer laser photoablation in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39: in press.
50. Kim JS, Park SW, Kim JH, Lee SI, Yang HN, Kim JC. Temporary amniotic membrane graft promotes healing and inhibits protease activity in corneal wound induced by alkali burns in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39,S90.
51. Sato H, Shimazaki J, Shinozaki K, Tsubota K. Role of growth factors for ocular surface reconstruction after amniotic membrane transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39,S428.
52. Na BK, Hwang JH, Shin EJ, Song CY, Jeong JM, Kim JC. Analysis of human amniotic membrane components as proteinase inhibitors for development of therapeutic agent of recalcitrant keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39,S90.
53. Park WC, Tseng SCG. Temperature cooling reduces keratocyte death in excimer laser ablated corneal and skin wounds. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39,S449.
54. Kim JC, Tseng SCG. The effects on inhibition of corneal neovascularization after human amniotic membrane transplantation in severely damaged rabbit corneas. *Korean J Ophthalmol* 1995;9:32-46.
55. Tsubota K, Satake Y, Ohyama M, et al. Surgical reconstruction of the ocular surface in advanced ocular cicatricial pemphigoid and Stevens-Johnson syndrome. *Am J Ophthalmol* 1996;122:38-52.
56. Shimazaki J, Yang H-Y, Tsubota K. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in patients with chemical and thermal burns. *Ophthalmology* 1997;104:2068-76.
57. 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.
58. Franch A, Rama P, Lambiase A, Ponzin D, Caprioglio G. Human amniotic membrane transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39,S90.

XXI Curso Interamericano de Oftalmologia Clínica

Miami - Flórida - E.U.A.

30/10 a 30/11 de 1999

Informações.: R. Bondar - Bascom Palmer Eye Institute
900NW 17 th Street
Miami, Florida 33136 EEUU
e-mail rbondar@bpei.med.miami.edu
home page www.bpei.med.miami.edu