



Utilizzo della membrana amniotica nelle ulcere corneali

Roberto Ceccuzzi, Gabriella Ricciardelli, Marco Raneri,
Giovanni Furiosi, Annita Fiorentino

Clinica Oculistica, Università degli Studi di Pavia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia

Utilizzo della membrana amniotica nelle ulcere corneali

Il caso clinico, da noi riportato, è relativo ad un paziente di sesso maschile giovane di 28 anni di età affetto da ulcera corneale recidivante ingravescente. Essa è stata trattata inizialmente con terapia medica e successivamente, in ragione dell'insufficienza della medesima, con terapia chirurgica rappresentata dall'innesto di membrana amniotica. Il quadro clinico con il quale si presentava il paziente, caratterizzato anche da ipoestesia, poteva essere verosimilmente compatibile con cheratite neurotrofica secondaria alla connettivopatia preesistente. La membrana amniotica, se applicata quando sussistono le opportune indicazioni, consente una pressoché completa restituito ad integrum; salvo minimi reliquati che, generalmente, non inficiano significativamente l'acuità visiva.

Use of amniotic membrane in corneal ulcers

Our clinical case refers to a young male patient that is 28 years old and affected by progressive and relapsing corneal ulcer. He initially was treated by medical therapy and subsequently by surgical therapy which consists of amniotic membrane grafting. The clinical picture of the patient, characterised also by ipoesthesia, it's probably caused by neurotrophic keratitis following from pre-existent connectivopatya. If applied when the suitable indications subsist, amniotic membrane allows to obtain a complete recovery, excepted for minimal surgery outcomes, which generally don't compromise significantly the visual acuity.

Introduzione

La membrana amniotica (MA), o amnios, costituisce lo strato più interno della porzione fetale della placenta che si sviluppa dal 7° giorno di gestazione dall'ectoderma. La sua funzione consiste nella protezione del prodotto del concepimento durante la gravidanza. Istologicamente, caratterizzata da uno spessore variabile tra 0.02 e 0.50 mm [1], è costituita da tre strati [2]:

- monostrato di cellule epiteliali;
- lamina densa e membrana basale;
- matrice stromale avascolare (lamina compatta, lamina fibroblastica, lamina spongiosa).

Essa è dotata di almeno 5 proprietà fondamentali. La prima, riepitelizzante, sia in vivo che in vitro [3-4], è ascrivibile all'aumento dell'espressione di fattori di crescita (tra cui EGF, TGF α , TGF β 1-2-3) e di alcuni dei loro recettori [5]. La seconda, antifibrotica, è dovuta sia all'inibizione della differenziazione di cheratociti in fibroblasti [6] che alla riduzione dell'attivazione di fibroblasti indotta dalla riduzione dell'espressione del TGF-RII [7]. La terza, antiangiogenetica, è riconducibile all'aumento dell'espressione di TIMPS 1-2-3-4, TSP-1, IL-10 e PF-4 [8], endostatina e PEDF [9], HC-HA [10]. La quarta, antinfiammatoria, è ascrivibile all'aumento dell'apoptosi delle cellule flogistiche chemotatticamente attratte ed attivate in situ [11], alla riduzione dell'espressione di IL-1 α e IL-1 β ed all'aumento di espressione di IL-1RA e IL-10 [12], alla riduzione dell'espressione di MMPs ed all'aumento di espressione di TIMPs 1-2-3-4 [13] e alla modulazione dell'espressione di activina [14]. La quinta, antimicrobica, prevede un'attività sia antivirale, riconducibile all'aumento di espressione di cistatina E [15]; che antibatterica, riconducibile a fattori non meglio identificati [16-18].

Le sue applicazioni possono essere sia extra- che intra-oculari. Le prime prevedono l'utilizzo per ricostruzione delle cavità orale, vescicale e vaginale [19-20], per timpanoplastica o artroplastica, per trapianto di cute in caso di grave ustione [21], per interventi chirurgici di distretti di rilevante importanza estetica quale quello di testa e collo [22], per prevenzione della creazione di aderenze post-operatorie (soprattutto addominali) [23]. Le seconde prevedono l'impiego come:

- graft, con l'epitelio rivolto verso l'alto, in modo tale che, tramite il fenomeno di integrazione, l'epitelio sia ricoperto da cellule corneali e/o congiuntivali dell'ospite;
- patch, con l'epitelio rivolto verso il basso, in modo tale che, mediante il fenomeno di assorbimento, lo stroma da un lato intrappoli le cellule flogistiche dell'ospite e dall'altro rilasci alcune delle sostanze responsabili delle sue peculiari proprietà.

Il graft può essere impiegato con 2 finalità: la ricostruzione della superficie corneale [24], e la ricostruzione della superficie congiuntivale [25]. La prima è indicata in caso di:

- deficit acuto/cronico di cellule staminali limbari parziale [26-27] (ascrivibile a ustioni chimiche o fisiche [28-29], pemfigoide cicatriziale, S. di Sjogren, S. di Stevens-Johnson);
- ulcera/perforazione corneale senza infezione in atto [24];
- cheratopatia bollosa [30].

La seconda è indicata in caso di:

- symblepharon [31];
- pterigio, soprattutto se recidivante [32-33];
- neoplasie congiuntivali intraepiteliali [34].

Il patch può essere utilizzato per:

- bendaggio oculare protettivo con attività antiinfiammatoria e, quindi, antidolorifica in affezioni miscelanee acute/croniche [8];
- ri-trattamento refrattivo con laser ad eccimeri (PRK/PTK) per correzione di ametropie al fine di ridurre l'eventuale comparsa di haze [4];
- cheratopatia a bandelletta [35].

Indicazioni a vantaggio minimo comprendono il deficit acuto/cronico di cellule staminali limbari totale [36-39] (in tal caso è necessario associare autotrapianto, in casi monolaterale, o allotrapianto, in casi bilaterali).

Controindicazioni relative possono essere rappresentate da compromissione degli annessi, compromissione del film lacrimale. Esse, infatti, se non adeguatamente corrette possono compromettere il risultato post-operatorio. Controindicazioni assolute possono essere rappresentate da:

- ulcera/perforazione corneale con grave infezione in atto [24] (procedura parzialmente invasiva in tessuto infetto, ostacola l'attività della terapia antimicrobica);
- ulcera/perforazione corneale con dimensioni oltre i 2-3 cm [40] (in tal caso, infatti, è necessario ricorrere a terapie alternative come colla di fibrina/cianoacrilato [41], ricoprimento congiuntivale o cheratoplastica).

Caso clinico

Il caso clinico, da noi riportato, è relativo ad un paziente di sesso maschile giovane di 28 anni di età con anamnesi familiare muta, anamnesi personale caratterizzata da malattie esantematiche infantili, intervento cardiocirurgico per atresia della tricuspide secondaria ad una verisimile connettivopatia sistemica non meglio inquadrata ed anamnesi oculare muta.

Il paziente giunge all'osservazione presso il Pronto Soccorso della Clinica Oculistica della Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia per rossore e fastidio persistente da alcuni giorni all'occhio destro.

La visita alla lampada a fessura evidenzia la presenza di un bulbo congesto con iperemia congiuntivale ed erosione corneale centrale. Per tal motivo si propone ricovero. Durante la degenza viene posta diagnosi di ulcera corneale, trattata con Lomefloxacin 0.3% per 5 volte al dì e Ialuronato 0.2% per 6-8 volte al dì.

Dopo non molti giorni dalla dimissione il paziente effettua un ulteriore accesso al Pronto Soccorso per peggioramento progressivo della sintomatologia nonostante il trattamento in atto.

La visita alla lampada a fessura evidenzia un quadro sostanzialmente sovrapponibile ed all'esame estesiometrico risulta marcata ipoestesia corneale. Durante la degenza viene posta diagnosi di ulcera corneale recidivante, in assenza di agenti microbiologici. Viene iniziato un trattamento con gel piastri-nico, ma durante il ricovero l'ulcera corneale recidivante mostra un andamento ingravescente. Per tal motivo si propone intervento chirurgico di apposizione di membrana amniotica.

Premessa fondamentale per il corretto utilizzo della MA secondo le due finalità terapeutiche è il riconoscimento del suo verso di applicazione. Esso è semplificato dal fatto che la MA è avvolta su un supporto di nitrocellulosa, cui aderisce con lo stroma. Per tal motivo, se è necessario utilizzarla come:

- graft, si solleva il supporto e lo si avvicina al bulbo oculare in modo che lo stroma scivoli sulla superficie dell'occhio;
- patch, si ribalta il supporto e si effettuano le stesse procedure in modo che l'epitelio scivoli sulla superficie dell'occhio.

L'identificazione del suo verso di applicazione può, altresì, essere effettuato tramite l'utilizzo di un asciughino che tende ad aderire al contatto con la superficie stromale ma non quella epiteliale.

L'intervento chirurgico ha previsto, in accordo con l'utilizzo della MA quale graft, l'apposizione di tre strati sovrapposti con la sutura a punti staccati in nylon 10/0: il primo, più piccolo, sul fondo dell'ulcera; il secondo, intermedio, che raggiungeva i margini dell'ulcera; il terzo, più grande, come copertura di tutta la superficie corneale (Figure 1, 2 e 3). Alla fine, si è applicata una lente a contatto (LAC) terapeutica morbida.

Il follow-up clinico-strumentale è stato condotto, con controlli periodici, presso l'Ambulatorio di Patologia Corneale della Clinica Oculistica di Pavia. Al primo mese post-operatorio, la lettura dell'ottotipo rilevava un'acuità visiva di 1/10 senza correzione ottica e l'esame del segmento anteriore evidenziava

la presenza di un bulbo ancora congesto con neovascolarizzazione sia superficiale che profonda e la presenza di suture in ordine. Lo strato superficiale della MA si presentava quasi completamente riassorbito, mentre lo strato profondo della medesima, pur se ancora permanente, risultava essere quasi completamente integrato (Figura 4). Al primo anno post-operatorio, la lettura dell'ottotipo rilevava un'acuità visiva di 2/10 senza correzione ottica e di 4/10 con correzione ottica (-2 sf addizionato a foro stenopeico) e l'esame del segmento anteriore evidenziava la presenza di un bulbo calmo con esiti di neovascolarizzazione (neovasi fantasma) e suture rimosse (Figura 5).

Discussione

Il quadro clinico con il quale si presentava il paziente, caratterizzato anche da ipoestesia, poteva essere verosimilmente compatibile con cheratite neurotrofica secondaria alla connettivopatia preesistente. Qualsiasi causa di occhio secco, anche transitoria, oppure traumatismo, anche minimo, avrebbe determinato un'erosione corneale non soggetta a riparazione, in ragione dell'alterata rigenerazione sia delle lamelle connettivali stromali di collagene IV che delle cellule epiteliali.

La cheratite (o cheratopatia) neurotrofica è una degenerazione corneale, più epiteliale che stromale, caratterizzata da sofferenza e scarsa tendenza alla guarigione tessutale, ascrivibile a perdita parziale o totale dell'innervazione sensoriale trigeminale con conseguente devitalizzazione corneale. Essa è responsabile di sindrome dell'occhio secco (o dry eye), esitante progressivamente in erosione, ulcerazione e perforazione corneale. L'eziologia può essere rappresentata da qualsiasi affezione in grado di determinare una lesione a carico dell'innervazione sensitiva trigeminale con conseguente blocco sensoriale riflesso della secrezione lacrimale. Infatti, l'apertura del bulbo oculare, a seguito dell'esposizione del medesimo all'ambiente esterno, attiva un arco riflesso determinante l'aumento della secrezione lacrimale ed, eventualmente, anche l'aumento della frequenza di ammiccamento. Oltre che da cause aspecifiche, come nel nostro caso, la cheratite neurotrofica può essere determinata da cause specifiche tra le quali possono essere annoverate:

- malattie congenite (anestesia congenita con displasia ectodermica anidrotica, disautonomia familiare o S. di Riley-Day, S. di Mobius, S. di Gorlin-Goldenhar, pupilla di Adie);
- malattie neurologiche (S. di Gradenigo, S. del seno cavernoso, S. dell'apice orbitario, aneurisma/ictus cerebrale, nevralgia trigeminale, sclerosi multipla, neurinoma dell'acustico);
- malattie dismetaboliche (diabete mellito responsabile di neuropatia trigeminale, eventualmente aggravata da panfotocoagulazione retinica responsabile di danno ai nervi ciliari);
- infezioni sistemiche (lebbra) o locali (herpes simplex o herpes zoster);
- malattie corneali (traumi maxillo-facciali, ustioni chimiche/fisiche, cheratopatia da LAC);
- distrofie corneali (tipo granulare o lattice);
- interventi chirurgici corneali non refrattivi (incisione limbare per ECCE, cheratoplastica, operazione per nevralgia trigeminale o neurinoma dell'acustico) o refrattivi (LASIK);
- farmaci sistemici (beta-bloccanti, analgesici) o topici (conservanti, anestetici);
- miscellanee (senilità).

Sebbene la diagnosi possa essere relativamente semplice, tuttavia la terapia può risultare complessa. Essa deve essere iniziata quanto più precocemente possibile in modo da arrestare, o almeno rallentare, la progressione della malattia. In primo luogo si utilizzano lacrime artificiali senza conservanti o unguenti oftalmici, soprattutto se si manifesta xerofthalmia secondaria ad occhio secco. Ove possibile, la concomitante instillazione di farmaci topici dovrebbe essere sospesa.

In secondo luogo si ricorre a lacrime artificiali associate ad antibiotici topici a scopo profilattico oppure a bendaggio palpebrale, iniezione di tossina botulinica A nel muscolo elevatore della palpebra superiore o tarsoraffia laterale. Sebbene il trattamento possa essere precoce e adeguato, tuttavia l'ulcera può evolvere in perforazione. In tal caso è indicato l'utilizzo di colla di fibrina/cianoacrilato o l'innesto di membrana amniotica se la dimensione della lesione è inferiore a 2-3 mm oppure ricoprimento congiuntivale o cheratoplastica se la dimensione della lesione è superiore a 2-3 mm. Poiché nel nostro caso la perforazione era caratterizzata da ridotta estensione è stato possibile ricorrere all'uso della MA. Il suo innesto ha consentito una pressoché completa restituito ad integrum, salvo minimi reliquati che, generalmente, non inficiano significativamente l'acuità visiva.

Tabelle e figure

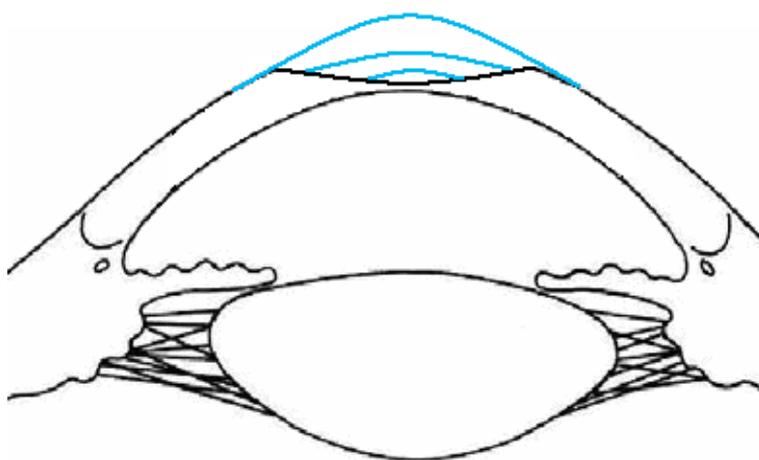


Figura 1. Rappresentazione schematica dell'innesto della membrana amniotica.

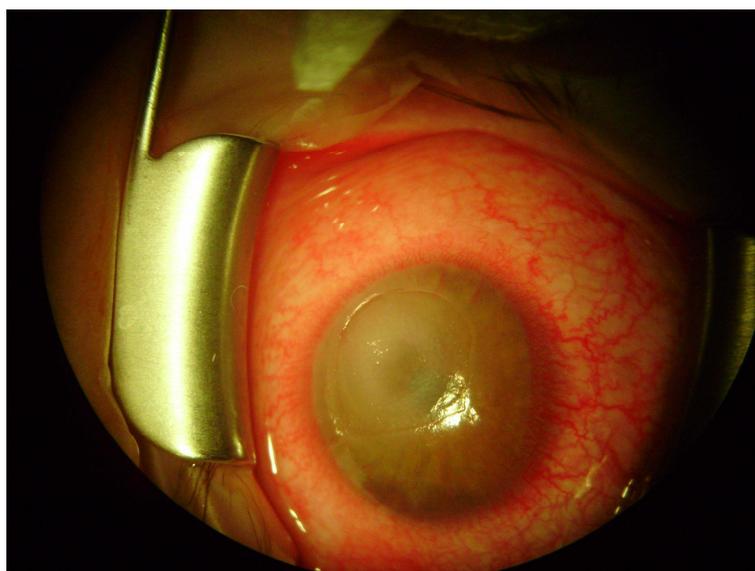


Figura 2. Bulbo oculare in fase pre-operatoria con ulcera centro-corneale.

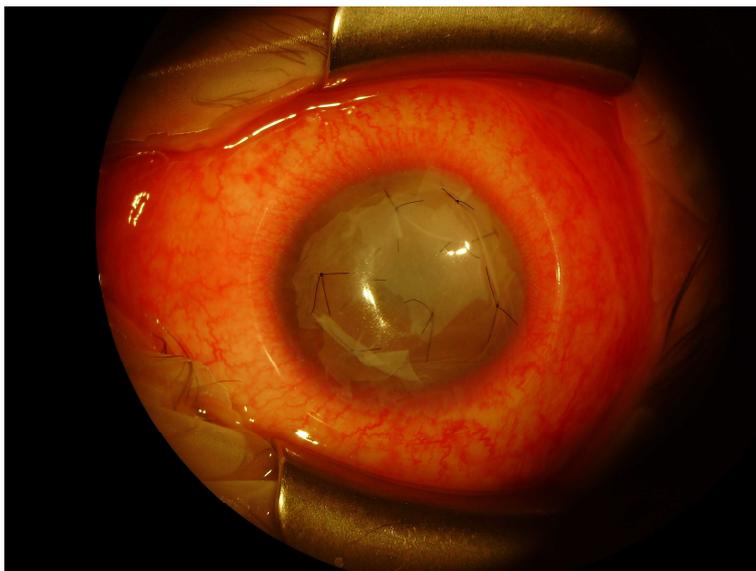


Figura 3. Bulbo oculare in fase post-operatoria con membrana amniotica applicata e suturata.



Figura 4. Bulbo oculare al primo mese post-operatorio.

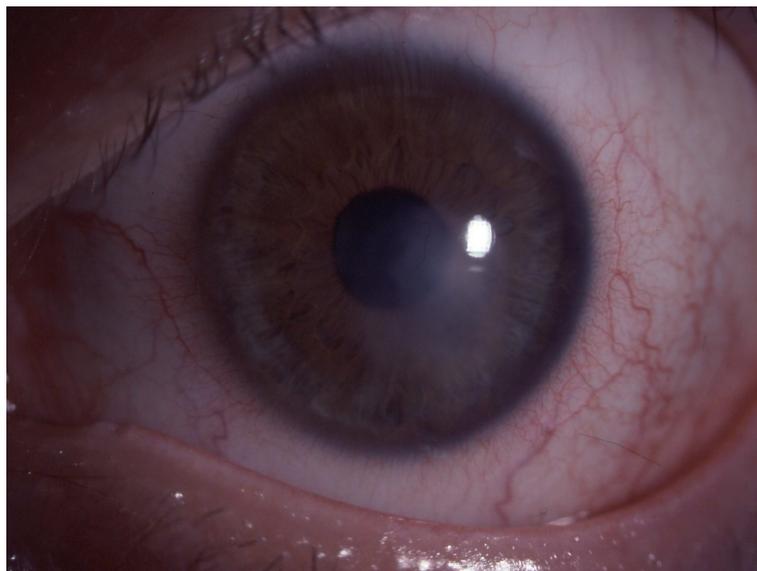


Figura 5. Bulbo oculare al primo anno post-operatorio.

Bibliografia

1. Danfort DN, Hull RW. The microscopic anatomy of the fetal membranes with particular reference to the detailed structure of the amnion. *Am J Obstet Gynecol* 1958;75:536-550.
2. Bourne GL. The microscopic anatomy of the human amnion and chorion. *Am J Obstet Gynecol* 1960;79:1070-1073.
3. Grueterich M, Tseng SGC. Ex vivo expansion of limbal epithelial stem cell: amniotic membrane serving as a stem cell niche. *Survey of Ophthalmol* 2003;48:631.
4. Dua HS, Gomes JAP, King AJ et al. The amniotic membrane in Ophthalmology. *Survey of Ophthalmol* 2004;49:51.
5. Koizumi NJ, Inatomi TJ, Sotozono CJ. Growth factor mRNA and protein in preserved human amniotic membrane. *Curr Eye Res* 2000;20:139.
6. Choi TH, Tseng SC. In vivo and in vitro demonstration of epithelial cell induced myofibroblast differentiation of keratocytes and inhibitory effect by amniotic membrane. *Cornea* 2001;20:197.
7. Tseng SC, Li DQ. Suppression of transforming growth factor-beta isoform, TG-beta receptor type II, and myofibroblast differentiation in cultured human corneal and limbal fibroblasts by amniotic membrane matrix. *J Cell Physiol* 1999;179:325.
8. Hao Y, Ma DH, Hwang DG. Identification of anti-angiogenic and anti-inflammatory proteins in human amniotic membrane. *Cornea* 2000;19:348.
9. Shimmura S, Shimazaki J, Ohashi Y et al. Anti-inflammatory effects of amniotic membrane transplantation in ocular surface disorders. *Cornea* 2001;20:408.
10. Solomon A, Rosenblatt M, Monroy D. Suppression of IL-1alpha and IL-1beta in human limbal epithelial cells cultured on the amniotic membrane stromal matrix. *Br J Ophthalmol* 2001;85:444.
11. Kim JS, Kim JC, Na BK. Amniotic membrane patching promotes healing and inhibits proteinase activity on wound healing following acute corneal alkali burn. *Exp Eye Res* 2000;70:329.
12. Keelan JA, Zhon RL, Mitchell MD. Activin A exerts both pro and anti inflammatory effects on human term gestational tissue. *Placenta* 2000;21:38.
13. Ni J, Abrahamson M, Zang M. Cystatin E is a novel human cysteine proteinase inhibitor with structural resemblance to family Z Cistatins. *J Biol Chem* 1997;272:10853.
14. Talmi YP, Sigler L, Inge E. Anti-bacterial properties of human amniotic membrane. *Placenta* 1991;12:285.
15. Kjaergaard N, Helming RB. Chorioamniotic membranes constitute a competent barrier to group B streptococcus in vitro. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1999;83:165.
16. Kjaergaard N, Hein M, Hyttel L. Anti-bacterial properties of human amnion and chorion in vitro. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001;94:224.
17. Burger K. Artificial vaginal reconstruction with the help of amnios. *Zentralblatt fur Gynakal* 1937;24:37.
18. Dhall K. Amnion graft for treatment of congenital absence the vagina. *Br J Obstet Gynecol* 1984;91:279.
19. Davis JW. Skin transplantation with a review of 550 cases at the Johns Hopkins Hospital. *Johns Hopkins Med J* 1910;15:307.
20. Zahar Y, Talmi YP, Finkenstein Y. Use of human amniotic membrane in otolaryngologic practice. *Laryngoscope* 1987;97:978.

21. Arora M, Jarondi KA, Hamilton CJ et al. Controlled comparison of interced and amniotic membrane graft in the prevention of postoperative adhesion in the rabbit uterine horn model. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1994;55:179.
22. Kenyon KR. Amniotic membrane. Mother's own remedy for ocular surface disease. *Cornea* 2005;24:639.
23. De Roth A. Plastic repair of conjunctival defects with fetal membranes. *Arch Ophthalmol* 1940,23:522.
24. Tseng SGC, Prabhasawat P, Barton K. Amniotic membrane transplantation with or without limbal auto-grafts for corneal surface reconstruction in patients with limbal stem cell deficiency. *Arch Ophthalmol* 1998;116:431.
25. Sangwan VS, Matalia HP, Vemuganti GK et al. Amniotic membrane transplantation for reconstruction of corneal epithelial surface in cases of partial limbal stem cell deficiency. *In J Ophthalmol* 2004;52:281.
26. Sorsby A, Simmons HM. Amniotic membrane graft in caustic burns eye (burns of second degree). *Br J Ophthalmol* 1946;30:337.
27. Sorsby A, Haytorne J, Reed H. Further experience with amniotic membrane grafts in caustic burns of the eye. *Br J Ophthalmol* 1947;31:409.
28. Pires RT, Tseng SC, Prabhasawat P. Amniotic membrane transplantation for symptomatic bullous keratopathy. *Arch Ophthalmol* 1999;117:1291.
29. Solomon A, Espana EM, Tseng SCG. Amniotic membrane transplantation for reconstruction of the conjunctival foveas. *Ophthalmol* 2003;110:93.
30. Tanuvatt N, Martin T. The results of amniotic membrane transplantation for primary pterygium compared with conjunctival autograft. *Cornea* 2004;23:458.
31. Ang LP, Tan DT, Cajucom-Hy H et al. Autologous cultivated conjunctival transplantation for pterygium surgery. *Am J Ophthalmol* 2005;139:611.
32. Espana EM, Prabhasawat P, Gruetrich M et al. Amniotic membrane transplantation for reconstruction after excision of large ocular surface neoplasia. *Br J Ophthalmol* 2002;86:640.
33. Anderson DF, Prabhasawat P, Alfonso E et al. Amniotic membrane transplantation after the primary surgical management of band keratopathy. *Cornea* 2001;20:354.
34. Shimazaki J, Yang HY, Tsubota K. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in patients with chemical and thermal burns. *Ophthalmology* 1997;104:2068.
35. Tsubota K, Satake Y, Kaido M. Treatment of severe ocular surface disorders with corneal epithelial stem cell transplantation. *N En J Med* 1999;29:1697.
36. Salomon A, Ellies P, Anderson DF. Long term out-come of keratolimbal allograft with or without penetrating keratoplasty for total limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology* 2002;109:1159.
37. Gomes JAP, Santos MS, Cunha MC. Amniotic membrane transplantation for partial and total limbal stem cell deficiency secondary to chemical burns. *Ophthalmology* 2003;110:466.
38. Rodriguez Ares MT, Tourino R, Lopez Valladares MJ et al. Multilayer amniotic membrane transplantation in the treatment of corneal perforations. *Cornea* 2004;23:577.
39. Hicks S, Demers PE, Brunetti L. Amniotic membrane transplantation and fibrin glue in the management of corneal ulcers and perforation: a review of 33 cases. *Cornea* 2005;24:369.