

# Transplantacija amnijske membrane u oftalmologiji

---

Orešković, Marko

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:785691>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-21**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Marko Orešković**

**Transplantacija amnijske membrane u  
oftalmologiji**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2024.**

Ovaj diplomski rad izrađen je na Klinici za očne bolesti Kliničkog bolničkog centra Zagreb, pod vodstvom doc.dr.sc. Sanje Masnec i predan je na ocjenjivanje u akademskoj godini 2023./2024.

## POPIS KRATICA

**MHC** - glavni kompleks tkivne podudarnosti (engl. *major histocompatibility complex*)

**HLA** - humani leukocitni antigen (engl. *human leukocyte antigen*)

**EGF** - epidermalni čimbenik rasta (engl. *epidermal growth factor*)

**KGF** - keratinocitni čimbenik rasta (engl. *keratinocyte growth factor*)

**HGF** - hepatocitni čimbenik rasta (engl. *hepatocyte growth factor*)

**TNF- $\alpha$**  - čimbenik tumorske nekroze  $\alpha$  (engl. *tumor necrosis factor  $\alpha$* )

**IL-6** - interleukin 6

**TGF- $\beta$**  - transformirajući čimbenik rasta  $\beta$  (engl. *transforming growth factor  $\beta$* )

**HIV** - virus humane imunodeficijencije

**HBV** - hepatitis B virus

**HCV** - hepatitis C virus

**HTLV** - humani T-limfotropni virus

**DMEM** - Dulbeccov modificirani Eagleov medij

**bFGF** - bazalni fibroblastni čimbenik rasta (engl. *basal fibroblast growth factor*)

**HC-HA/PTX3** - teškolančana hijaluronska kiselina/pentraksin 3 (engl. *heavy chain hyaluronic acid/pentraxin 3*)

**TIMP-1** - tkivni inhibitor metaloproteinaza 1

**CTGF** - čimbenik rasta vezivnog tkiva (engl. *connective tissue growth factor*)

**PED** - perzistentni epitelni defekt rožnice

**HSV** - herpes simpleks virus

**LSCD** - deficijencija limbalnih matičnih stanica (engl. *limbal stem cell deficiency*)

**OSSN** - pločasta neoplazma površine oka (engl. *ocular surface squamous neoplasia*)

**SJS/TEN** - Stevens-Johnson sindrom/toksična epidermalna nekroliza

## SADRŽAJ

<b>SAŽETAK</b> .....	I
<b>SUMMARY</b> .....	II
<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. GRAĐA, FUNKCIJA I OSOBITOSTI AMNIJSKE MEMBRANE</b> .....	2
2.1. Razvoj i građa fetalnih membrana.....	2
2.2. Histološka struktura amnijske membrane.....	2
2.3. Biološka svojstva amnijske membrane.....	2
<b>3. PRIPREMA I ČUVANJE TKIVA</b> .....	4
3.1. Pribavljanje amnijske membrane.....	4
3.2. Metode prezervacije amnijske membrane.....	4
3.2.1. Krioprezervacija.....	4
3.2.2. Dehidracija.....	5
3.2.3. Liofilizacija.....	6
<b>4. KIRURŠKE TEHNIKE TRANSPLANTACIJE</b> .....	7
4.1. <i>Inlay</i> tehnika.....	7
4.2. <i>Onlay</i> tehnika.....	8
4.3. Kombinirana tehnika.....	8
<b>5. INDIKACIJE ZA TRANSPLANTACIJU AMNIJSKE MEMBRANE</b> .....	9
5.1. Perzistentni epitelni defekt rožnice.....	9
5.2. Infektivni keratitis.....	10
5.3. Opekline oka.....	11
5.4. Deficijencija limbalnih matičnih stanica.....	12
5.5. Neurotrofična keratopatija.....	13
5.6. Pterigij.....	13
5.7. Stevens-Johnsonov sindrom i toksična epidermalna nekroliza.....	15
5.8. Tumori spojnice.....	16
<b>6. SUVREMENE TEHNIKE KORIŠTENJA AMNIJSKE MEMBRANE</b> .....	18
6.1. Ekstrakt amnijske membrane.....	18
6.2. Kultivacija limbalnih matičnih stanica.....	18
<b>7. ZAKLJUČAK</b> .....	20

<b>8. LITERATURA.....</b>	<b>21</b>
<b>9. ZAHVALE.....</b>	<b>29</b>
<b>10. ŽIVOTOPIS.....</b>	<b>30</b>

## SAŽETAK

### Transplantacija amnijske membrane u oftalmologiji

Marko Orešković

Amnijska membrana, ili amnion, unutrašnji je sloj amnijske vreće, strukture u kojoj se razvija ljudski embrio i kasnije fetus. Ona se već duži niz godina koristi u liječenju kroničnih rana na različitim dijelovima tijela, a u ovom preglednom radu ukratko je prikazana njena uloga u oftalmologiji, području u kojem se danas najviše primjenjuje. Mnogobrojna istraživanja su pokazala da amnijska membrana posjeduje biološka svojstva koja omogućuju pozitivno djelovanje na zarastanje tkiva, od kojih su izdvojena poticanje reepitelizacije, protuupalni i antifibrozirajući učinak. Također, amnijska membrana ne izaziva odgovor imunskog sustava primatelja, što ju čini idealnim tkivom za transplantaciju. Ona se pribavlja nakon elektivnih poroda carskim rezom, uz detaljnu mikrobiološku obradu, što smanjuje mogućnost prijenosa patogena na minimalnu razinu. Nakon pribavljanja, odabire se metoda prezervacije koja će se koristiti, a u današnje vrijeme najčešće se radi o krioprezervaciji, dehidraciji ili liofilizaciji. Ovisno o metodi i tehnici izvođenja prezervacije, transplantati se mogu čuvati i do više godina prije nego što se pristupi njihovom korištenju. Tri su osnovna načina korištenja transplantata u očnoj kirurgiji, a primarno se razlikuju po njihovoj orijentaciji u odnosu na površinu oka. Tako se razlikuju *inlay*, *onlay* i kombinirana ili *sandwich* tehnika. Što se tiče bolesti u kojima je indicirana transplantacija amnijske membrane, one su izrazito mnogobrojne. U ovom su radu stoga izdvojene one bolesti i stanja za koje postoji najveća količina podataka vezanih uz učinkovitost korištenja ove kirurške tehnike. U posljednjem dijelu rada ukratko su prikazane suvremene tehnike korištenja amnijske membrane u oftalmologiji – ekstrakt amnijske membrane i kultivacija limbalnih matičnih stanica.

Ključne riječi: amnijska membrana, transplantacija, očne bolesti

## **SUMMARY**

### **Amniotic membrane transplantation in ophthalmology**

Marko Orešković

The amniotic membrane, or amnion, is the inner layer of the amniotic sac, the structure in which the human embryo and later fetus develops. For many years, it has been used for treating chronic wounds on different parts of the body, and in this review, its application in ophthalmology, the field in which it is most widely used today, is briefly presented. Numerous studies have shown that the amniotic membrane has various biological properties that promote tissue healing, the essential ones being the stimulation of reepithelialization, anti-inflammatory and anti-scarring effects. Furthermore, the amniotic membrane does not trigger an immune response, which makes it an ideal tissue for transplantation. The grafts are obtained during elective cesarean deliveries, after a thorough microbiological work-up, which reduces the risk of pathogen transmission to a minimal level. After procurement, the preservation method is selected, and nowadays the most commonly used techniques are cryopreservation, dehydration or lyophilization. Depending on the preservation method, grafts can be stored for up to several years before being implanted. There are three basic surgical techniques of using the grafts, and they differ primarily regarding their orientation in relation to the surface of the eye. The main techniques are inlay, onlay and combined or sandwich transplantation. Due to the vast number of different ocular pathologies for which amniotic membrane transplantation is indicated, only the ones with the largest amount of data related to its clinical efficacy have been highlighted in this review. In the final part of the review, contemporary applications of amniotic membrane in ophthalmology are briefly presented - amniotic membrane extract and cultivation of limbal stem cells.

Keywords: amniotic membrane, transplantation, eye diseases



## 1. UVOD

Razvoj tehnike transplantacije prezervirane ljudske amnijske membrane jedno je od važnijih dostignuća u oftalmologiji. Amnijska membrana, ili amnion, se u današnje vrijeme opsežno koristi u različitim područjima medicine, a najviše upravo u oftalmologiji za liječenje mnogobrojnih očnih bolesti i poremećaja. Njen povoljni učinak na reepitelizaciju tkiva, smanjenje upalnog odgovora i promociju normalnog procesa cijeljenja čini ju idealnim sredstvom za liječenje bolesti koje možda ne ugrožavaju život bolesnika, no svakako smanjuju kvalitetu života i mogućnost normalnog svakodnevnog funkcioniranja.

Povijest korištenja amnijske membrane kao materijala za transplantaciju seže u početak 20. stoljeća, kada je ona prvi puta korištena kao presadak u liječenju kožnih defekata (1). 1940. godine se prvi puta koristi u oftalmologiji (2), i to s dobrim terapijskim ishodima. Nedostatak tehnika prezervacije je međutim onemogućio rutinsko korištenje te se tek od sredine devedesetih godina, zaslugom Kima i Tsenga (3) amnijska membrana počinje redovito koristiti u liječenju očnih bolesti. Iako se u današnje vrijeme amnijska membrana dominantno koristi u oftalmologiji, ona se primjenjuje i u mnogim drugim kirurškim granama poput traumatologije, ginekologije i plastično-rekonstruktivne kirurgije (4).

Cilj ovog preglednog rada je ukratko prikazati potpunu proceduru transplantacije amnijske membrane, njena biološka svojstva koja omogućuju terapijski učinak te suvremene trendove korištenja u najčešćim indikacijama za koje se ona koristi.

## 2. GRAĐA, FUNKCIJA I OSOBITOSTI AMNIJSKE MEMBRANE

### 2.1. RAZVOJ I GRAĐA FETALNIH MEMBRANA

Tijekom razvoja fetusa, razlikujemo četiri fetalne membrane. One su amnion, korion, žumanjčana vreća i alantois. Amnion i korion čine stijenku amnijske vreće ili vodenjaka, u kojoj se razvija fetus. Fetalne membrane podrijetlom su iz vanjskog sloja blastociste koji se naziva trofoblast, a čiji razvoj počinje već u prvom tjednu embrionalnog razvoja (5). Glavna funkcija fetalnih membrana je mehanička zaštita zametka i osiguravanje razdvojenosti majčinog i fetalnog tkiva. Također, fetalne membrane su dio posteljice, koja je ključna za razmjenu nutrijenata, plinova i metabolita između majčine i fetalne cirkulacije.

Amnion, ili amnijska membrana, unutrašnja je fetalna membrana. Ona čini unutarnju stijenku amnijske vreće te je u početku embrionalnog razvoja razdvojena od koriona, no nakupljanjem amnijske tekućine u amnijskoj vreći dolazi do njihovog međusobnog sraštanja.

### 2.2. HISTOLOŠKA STRUKTURA AMNIJSKE MEMBRANE

Amnijska membrana prozirna je i tanka struktura debljine koja varira između 20 i 500  $\mu\text{m}$  (6). Ona se sastoji od pet slojeva a to su sljedeći: jednoslojni kubični epitel, bazalna membrana te stroma koja se dijeli na kompaktni, fibroblastni te spužvasti sloj (7). Spužvasti sloj strome predstavlja svojevrsnu prijelaznu zonu između amnijske membrane i retikularnog sloja koriona. Na površini epitelnih stanica nalaze se brojni mikrovili koji imaju važnu ulogu u transcelularnom transportu tvari (6).

### 2.3. BIOLOŠKA SVOJSTVA AMNIJSKE MEMBRANE

Jedno od najvažnijih svojstava amnijske membrane je nedostatak imunogeničnosti, što ju čini idealnim tkivom za transplantaciju. Naime, na površini amnijskih stanica vrlo je mala količina MHC-I antigena (*major histocompatibility complex class 1*), koji su kodirani HLA-A, HLA-B i HLA-C genima (*human leukocyte antigen*) te nema MHC-II antigena, koji je kodiran HLA-DR genom (8). Samim time histokompatibilnost amnijske membrane je vrlo visoka te je mogućnost nastanka reakcije odbacivanja nakon transplantacije zanemariva.

Amnijska membrana ima izrazito visok učinak na promociju epitelizacije tkiva. Ona je bogata različitim čimbenicima rasta, samo neki od kojih su epidermalni čimbenik rasta (EGF, *epidermal growth factor*); keratinocitni čimbenik rasta (KGF, *keratinocyte growth factor*) te

hepatocitni čimbenik rasta (HGF, *hepatocyte growth factor*) (9). Ovi faktori rasta djeluju kao mitogeni te potiču rast i diferencijaciju epitelnih stanica primatelja presatka. Također, mikroskopska struktura amnijske membrane, a posebno kolagenska struktura bazalne membrane vrlo je slična strukturi bazalne membrane epitela rožnice i spojnice (10), što je jedno od objašnjenja za dobre terapijske ishode transplantacije amnijske membrane u oftalmološkim indikacijama.

Amnijska membrana također pokazuje i imunomodulatorni učinak, što je rezultat supresije lučenja proupalnih citokina, poput čimbenika tumorske nekroze alfa (TNF- $\alpha$ , *tumor necrosis factor- $\alpha$* ) i interleukina-6 (IL-6) te poticanja proliferacije Treg regulatorne subpopulacije limfocita T. Ovi imunomodulatorni učinci imaju za rezultat smanjenje intenziteta simptoma oštećenja oka te smanjenje edema tkiva što doprinosi pozitivnom terapijskom rezultatu (11).

Još jedno svojstvo amnijske membrane, a koje ima posebnu važnost u oftalmologiji, je njen inhibitorni učinak na razvoj ožiljaka. Ovaj učinak još uvijek nije u potpunosti razjašnjen, no smatra se da središnju ulogu ima inhibicija transformirajućeg čimbenika rasta  $\beta$  (TGF- $\beta$ , *transforming growth factor  $\beta$* ) u fibroblastima vezivnog tkiva rožnice i spojnice (12). Smatra se da ovom inhibitornom učinku, koji prevenira ekscesivnu fibrozu tkiva tijekom cijeljenja rana, također pridonosi i visoka koncentracija hijaluronske kiseline u amnijskoj membrani (13).

### 3. PRIPREMA I ČUVANJE TKIVA

#### 3.1. PRIBAVLJANJE AMNIJSKE MEMBRANE

Amnijska membrana za transplantaciju pribavlja se nakon elektivnog carskog reza u sterilnim uvjetima. Prije samog zahvata, majke se podvrgavaju serološkim pretragama kojima se provjerava prisustvo protutijela na HIV, HBV, HCV, HTLV i *T. pallidum* (14). Također, preporučuje se presatke ne koristiti dok se serološke pretrage ne ponove 6 mjeseci nakon poroda. Ovim pristupom se izbjegava korištenje presadaka u eventualnoj situaciji u kojoj je vremenski period od primoinfekcije majke do prve serološke pretrage prekratak da bi došlo do serokonverzije i pojave protutijela u majčinoj krvi, što bi rezultiralo lažno negativnim nalazom. Posteljica dobivena vaginalnim porodom se ne koristi zbog visokog rizika kontaminacije vaginalnom florom (15).

Po porodu djeteta, posteljica se obilno ispiru otopinama antibiotika i antifungalnih lijekova. Autori Malhotra i Jain (15) spominju protokol koji uključuje sljedeće lijekove:

- penicilin u koncentraciji 50 µg/mL
- streptomycin u koncentraciji 50 µg/mL
- neomicin u koncentraciji 100 µg/mL
- amfotericin B u koncentraciji 2,5 µg/mL

Ovakav protokol pruža zadovoljavajuće pokrivenje gram pozitivnih i gram negativnih bakterija te gljivica. Nakon što se posteljica ispere, slijedi tupa disekcija kojom se amnijska membrana odvaja od koriona te se zatim odabire način prezervacije.

#### 3.2. METODE PREZERVACIJE AMNIJSKE MEMBRANE

##### 3.2.1. KRIOPREZERVACIJA

Krioprezervacija je u današnje vrijeme najčešće korištena tehnika prezervacije amnijske membrane. Nakon odvajanja amnijske membrane od koriona, ona se reže na komade veličine 4x4 cm, postavlja na nitrocelulozni papir te se pohranjuje u sterilnim epruvetama, uronjena u smjesu glicerola i Dulbeccovog modificiranog Eagleovog medija (*Dulbecco's modified Eagle's medium* – DMEM) u omjeru 1:1 (3). Epruvete se potom pohranjuju na -80°C, a prije same transplantacije vade iz hladnjaka te griju na sobnoj

temperaturi u trajanju od oko 10 minuta (15). Ovaj protokol, kojeg su Kim i Tseng razvili 1995., a 1997. Tseng i ostali uveli u kliničku praksu (16), i danas se preferira kada je u pitanju krioprezervacija amnijske membrane. Glavne prednosti ove metode su dobro očuvanje strukture ekstracelularnog matriksa i sadržaja faktora rasta, a glavni nedostaci su ograničeni vijek trajanja (amnijska membrana se na  $-80^{\circ}\text{C}$  može čuvati do dvije godine) te potreba za specijaliziranom opremom za smrzavanje na iznimno niskim temperaturama (17).

Iako se krioprezervirana amnijska membrana najčešće pohranjuje na  $-80^{\circ}\text{C}$ , stručna skupina znanstvenika sa Sveučilišta Heinrich Heine iz Düsseldorfa te Sveučilišta RWTH iz Aachena istraživala je mogućnost smrzavanja amnijske membrane na  $-28^{\circ}\text{C}$ , što je otprilike temperatura koju mogu postići kućanski zamrzivači. Oni su mjereći i uspoređujući različite karakteristike, poput sadržaja kolagena, koncentracije hepatocitnog čimbenika rasta (*hepatocyte growth factor* – HGF), koncentracije bazičnog fibroblastnog čimbenika rasta (*basal fibroblast growth factor* – bFGF), modula elastičnosti i tenzilne snage, zaključili da nema značajnih razlika u vidu klinički relevantnih karakteristika između amnijske membrane zamrznute na  $-80^{\circ}\text{C}$  te one zamrznute na  $-28^{\circ}\text{C}$  (18). Ovakav pristup mogao bi u budućnosti uvelike povećati dostupnost transplantacije amnijske membrane, osobito u područjima gdje je raspoloživost specijalizirane opreme za smrzavanje na iznimno niskim temperaturama smanjena.

### 3.2.2. DEHIDRACIJA

Druga metoda prezervacije amnijske membrane je dehidracija, koja se može odvijati na zraku ili u pećnici na  $40^{\circ}\text{C}$ . Sam proces sušenja, odnosno dehidracije traje oko osam sati, najčešće tijekom jedne noći (17). Obzirom na povećani rizik mikrobiološke kontaminacije presađaka u usporedbi s krioprezervacijom, prije dehidracije se presađci moraju dodatno sterilizirati, najčešće uporabom gama zračenja (4).

Glavna prednost dehidriranih presađaka jest mogućnost pohrane na sobnoj temperaturi, bez potrebe za specijaliziranom opremom, a neki autori navode da ih je moguće koristiti do čak pet godina (17). Također, dehidracija na zraku je zasigurno najjeftinija i najjednostavnija metoda prezervacije. Brojne su biološke razlike dehidriranih presađaka u usporedbi s krioprezerviranim. Dolazi do većih izmjena biokemijskih svojstava, poput smanjene koncentracije topive komponente izvanstaničnog matriksa HC-HA/PTX3 (heavy chain-hyaluronic acid/pentraxin 3) (19). Također dolazi do smanjenja koncentracije različitih tkivnih faktora koji su važni za proces cijeljenja rana, poput TGF- $\beta$ 1, TIMP-1 i CTGF (20). Postoje i određene razlike u histološkoj strukturi presađaka, poput većeg stanjenja bazalne

membrane, odsustva kolagena tipa VII iz bazalne membrane te slabije očuvanog strukturalnog integriteta tkiva (19, 20).

Iako bi ovi nedostaci dehidriranih presadaka amnijske membrane ukazivali na lošije funkcionalne rezultate u usporedbi s krioprezerviranima, nekolicina radova je do sada opovrgnula tu tezu te su razlike u ishodima liječenja male (21, 22).

### 3.2.3. LIOFILIZACIJA

Općenito, liofilizacija (poznatija pod engleskim nazivom *freeze drying*), označava postupak dehidracije pri niskoj temperaturi, koji uključuje zamrzavanje i redukciju tlaka. Smanjenje tlaka uzrokuje sublimaciju smrznute vode, pri čemu ona mijenja agregatno stanje iz krutog u plinovito, te se otklanja u obliku vodene pare. Liofilizacija se već duži niz godina koristi u različitim područjima primjene, osobito u farmaceutskoj i prehrambenoj industriji, a najpoznatiji primjer svakako je proizvodnja granulirane instant kave.

Liofilizirana amnijska membrana ima određene prednosti nad krioprezerviranom. Slično kao kod dehidrirane, glavna prednost je mogućnost pohranjivanja na sobnoj temperaturi, što, između ostalog, uvelike olakšava logističke probleme vezane uz transport krioprezerviranih presadaka koji zahtijevaju hladni lanac opskrbe (23).

Tijekom pripreme presadaka koriste se određeni šećeri koji pomažu očuvanju stanične strukture prilikom liofilizacije. Najkorišteniji je disaharid trehaloza ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ ), koji se nalazi u izvanstaničnom matriksu nekih organizama koji su izrazito otporni na dehidraciju, a liofilizirana amnijska membrana tretirana trehalozom zadržava slične morfološke i biokemijske karakteristike kao i svježa (24). Osim trehaloze, za ovu svrhu se može koristiti i trisaharid rafinoza ( $C_{18}H_{32}O_{16}$ ) (25).

## 4. KIRURŠKE TEHNIKE TRANSPLANTACIJE

Prije same transplantacije amnijske membrane potrebno je odabrati tehniku korištenja presadaka. Tri kirurške tehnike koje se najčešće koriste su *inlay* ili *graft*; *onlay* ili *patch* te kombinirana ili *sandwich*. Osim tehnike, određuje se i orijentacija presatka, odnosno da li će u kontaktu s rožnicom primatelja biti epitelna ili stromalna strana presatka. Identifikacija strana može katkada biti otežana; stromalna strana se doima ljepljivom (26) te se na njoj mogu naći niti staklaste supstance (27).

Češće se stromalna strana presatka pozicionira prema rožnici, tako da epitelna strana gleda prema vjedom otvoru, odnosno "gore". Ovakav način postavljanja se koristi kako bi bazalna membrana presatka poslužila kao supstrat na kojem mogu proliferirati stanice rožnice ili spojnice (15), što ubrzava i olakšava proces reepitelizacije. Obrnuto pozicioniranje, kada se epitelna strana stavlja prema rožnici, to jest "dolje", također se koristi ali rjeđe. Ovakva orijentacija može se koristiti kada je cilj smanjenje upalnih procesa, obzirom da izvanstanični matriks strome amnijske membrane sadrži antiinflamatorne i antiangiogene proteine (28).

### 4.1. INLAY TEHNIKA

*Inlay* ili *graft* tehnika označava korištenje presatka amnijske membrane prvenstveno kao supstrat na kojem će rasti stanice domaćina. Presadak se reže kako bi veličinom odgovarao defektu rožnice, postavlja tako da epitelna strana gleda prema "gore" te se šiva za okolno tkivo neresorptivnim 10-0 najlonskim koncem. Okolnih 1-2 cm rožničnog epitela se debridira kako bi novostvoreni, regenerirani epitel rastao na bazalnoj membrani presatka te kako bi se stroma presatka inkorporirala u tkivo domaćina (15, 29). Ukoliko je defekt rožnice dublji, može se koristiti i višeslojna tehnika, kada se defekt ispunjava s više komadića amnijske membrane ili s jednim savijenim komadom preko kojeg se stavlja površinski presadak koji se šiva za rožnicu (15). Neke od najčešćih indikacija za koje se *inlay* tehnika koristi su perzistirajući epitelni defekti i ulkusi rožnice te nakon ekscizije novotvorina spojnice. (14).

#### 4.2. ONLAY TEHNIKA

*Onlay* ili *patch* tehnika se koristi kada je glavna namjena presatka da služi kao svojevrsni biološki zavoj koji štiti rožnični epitel koji se nalazi ispod njega. Presadak se reže tako da bude veći od podležućeg defekta rožnice, najčešće postavlja epitelnom stranom "dolje" te se šiva za spojnicu ili episkleru pomoću resorptivnog 9-0 Vicryl konca (15). Osim što presadak služi kao fizikalna barijera, stroma amnijske membrane također izlučuje tvari koje pospješuju proces cijeljenja rožnice. Obzirom da u ovoj tehnici ne dolazi do inkorporacije presatka u tkivo domaćina, nakon nekog vremena se on odstranjuje ili spontano otpada (10). *Onlay* tehnika se najčešće koristi za epitelne defekte u kojima je stroma rožnice neoštećena ili s plitkim defektom (29).

#### 4.3. KOMBINIRANA TEHNIKA

Kao što i sami naziv kaže, kombinirana ili *sandwich* tehnika spoj je gore spomenutih. Pomoću jednog presatka koji služi kao *patch* privremeno se prekriva drugi presadak koji se inkorporira u tkivo oko defekta rožnice (15). Ovaj pristup se koristi za perzistentne defekte rožnice s dubinskim oštećenjima strome (29).



## 5. INDIKACIJE ZA TRANSPLANTACIJU AMNIJSKE MEMBRANE

### 5.1. PERZISTENTNI EPITELNI DEFEKT ROŽNICE

Perzistentnim epitelnim defektom rožnice (PED, *Persistent epithelial defect*) smatra se svako oštećenje rožnice koje, uz standardnu potpornu terapiju, ne zacijeli unutar 10-14 dana od nastupa ozljede (30). Više je čimbenika koji mogu utjecati na normalni proces reepitelizacije rožnice. Oštećenje bazalne membrane rožničnog epitela, koje može nastati uslijed povećane proizvodnje matriksnih metaloproteinaza, onemogućuje normalnu adheziju novonastalih epitelih stanica te time produljuje vrijeme potrebno za reepitelizaciju rožnice (30). Produljena upalna stanja vezana su uz pojačano lučenje različitih citokina, poput čimbenika tumorske nekroze  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) te interleukina-1 (IL-1), koji svojom aktivnošću također usporavaju cijeljenje rožnice (30). PED može nastati i uslijed poremećene inervacije rožnice (neurotrofična keratopatija) te deficijencije limbalnih matičnih stanica; ova dva stanja su detaljnije opisana u zasebnim poglavljima.

Etiološki, brojna su stanja koja mogu dovesti do poremećaja obnavljanja rožničnog epitela te samim time do PED. Stanja koja najčešće dovode do stvaranja ovakvog oštećenja rožnice su detaljnije opisana u sljedećim poglavljima ovog rada. Neka od ostalih su: kronična mehanička iritacija rožnice koju uzrokuju stanja poput lagoftalmusa, entropija i ektropija; različite autoimune bolesti, poput Sjögrenovog sindroma; sindrom suhih očiju te neka nasljedna stanja, poput aniridije (30).

Prije liječenja samog PED, potrebno je etiološki liječiti primarnu bolest ili stanje koje je dovelo do stvaranja oštećenja rožnice, primjerice šećernu bolest koja oštećuje inervaciju rožnice što u konačnici rezultira stvaranjem PED. Standardno liječenje samog PED u prvom redu uključuje obilno vlaženje pomoću kapi za oči bez konzervansa, zatim punktalnu okluziju te korištenje mekih terapijskih leća (30). Također se koriste oralni tetraciklini, koji inhibiraju djelovanje matriksnih metaloproteinaza (31). Od kirurških tehnika se najčešće primjenjuje tarzorafija, koja ubrzava cijeljenje epitela (32).

Ukoliko standardne metode liječenja nisu uspješne, tada je riječ o refrakternom PED. Najčešća metoda liječenja za ovaj oblik je upravo transplantacija amnijske membrane (30). Ona djeluje na više načina: povećava koncentraciju faktora rasta koji su neophodni za obnavljanje epitela, pruža bazalnu membranu na kojoj mogu rasti novonastale epitelne stanice te posjeduje imunomodulatorni učinak koji ubrzava proces reepitelizacije. Brojne studije su pokazale izraziti uspjeh transplantacije amnijske membrane u liječenju refrakternih PED (33, 34).

## 5.2. INFEKTIVNI KERATITIS

Infektivni keratitis (IK) infekcija je rožnice koja može biti uzrokovana bakterijama, virusima, gljivicama ili parazitima. Ta je bolest među najčešćim uzrocima zamućenja rožnice i peti najčešći uzrok sljepoće globalno (35). Zbog svoje infektivne pozadine, jasno je da je ova bolest osobit javnozdravstveni problem u zemljama u razvoju.

Najčešći je bakterijski oblik, odnosno bakterijski keratitis (BK). Dominantni uzročnici su *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, koagulaza negativni stafilokoki i *Pseudomonas aeruginosa* (36). Najvažniji predisponirajući čimbenik za razvoj ovog oblika je nepravilno nošenje kontaktnih leća, odnosno nepridržavanje higijene prilikom korištenja i pohrane leća. Ostali češći uzroci su trauma oka te prethodne operacije na rožnici (36). Predisponirajući čimbenici za razvoj gljivičnog i parazitnog oblika IK su slični, a među najčešćim uzročnicima nalaze se *Candida spp.* i *Acanthamoeba spp.* Daleko najčešći virusni uzročnik IK je HSV (herpes simplex virus), a od dva podtipa HSV, očne bolesti češće uzrokuje HSV-1. HSV je najčešći mikrobiološki uzročnik monokularne sljepoće u razvijenim zemljama (37) a predisponirajući čimbenici su imunokompromitiranost te visoka dob domaćina.

Klinička slika IK varira uslijed intenziteta bolesti. Najčešći simptomi su crvenilo oka, fotofobija, bolnost te iscjedak iz oka. Znakovi bolesti razlikuju se ovisno o uzročnicima pa se u bakterijskom i gljivičnom obliku često vidi hipopion (eksudat u prednjoj očnoj sobici). Izgled defekta rožnice koji se može javiti također ovisi o uzročniku; u bakterijskom i gljivičnom obliku on je najčešće okrugli, u HSV keratitisu dendritičnog oblika, a u amebnom keratitisu prstenastog oblika (36).

Osnova terapije IK su antimikrobni lijekovi koji naravno ovise o uzročniku bolesti. Tako se za BK preporučuju topikalni fluorokinoloni ili topikalna kombinacija cefazolina ili vankomicina s aminoglikozidom (36). Ovi antibiotici pokrivaju široki spektar uzročnika te predstavljaju idealnu opciju za empirijsko liječenje BK, a po dospijeću mikrobioloških nalaza terapija se prilagođava ovisno o izoliranom uzročniku. Za HSV keratitis se kao prva linija preporuča topikalni ganciklovir koji se može kombinirati s oralnim aciklovirom ili valganciklovirom (36, 38). Problem predstavlja dostupnost topičkog ganciklovira na europskom tržištu pa se umjesto njega češće koristi topikalni aciklovir.

Kirurško liječenje rezervirano je za komplikacije IK, u prvom redu perforaciju rožnice i usporeno cijeljenje rožničnog defekta (39). Za kratkotrajno liječenje može se koristiti cijanoakrilatno ljepilo iako se nakon tog postupka najčešće mora pristupiti daljnjem kirurškom liječenju (40). Transplantacija amnijske membrane često se koristi kao adjuvantni oblik liječenja te je više studija pokazalo da ona doprinosi bržem cijeljenju rožnice i oporavku vidne

oštrine (41, 42). Iako je većina ovih studija uključivala pacijente s bakterijskim i gljivičnim oblikom IK, transplantacija amnijske membrane pokazala se korisnom i za herpetički oblik IK (43). Potrebno je još kliničkih studija koje će utvrditi učinkovitost transplantacije amnijske membrane za ovaj oblik bolesti. Za najteže komplikacije IK rezervirani su radikalniji zahvati, najčešće penetrantna keratoplastika (36).

### 5.3. OPEKLINE OKA

Opekline oka su jedno od najvažnijih hitnih traumatskih stanja u oftalmologiji. Etiološki se mogu podijeliti na toplinske i kemijske ozljede. Toplinske opekline su uzrokovane kontaktom s tekućinama i parama visoke temperature ili otvorenim plamenom. S druge strane, kemijske opekline najčešće uzrokuje kontakt s kiselinama ili lužinama. Kemijske opekline su uglavnom jačeg intenziteta i dovode do opsežnije destrukcije tkiva, primarno zbog duljeg zadržavanja na površini oka. Lužine su češći uzročnik kemijskih opekline od kiselina, obzirom na veću zastupljenost u proizvodima za domaćinstvo, poput sredstava za čišćenje pećnica i sredstava za odčeppljivanje odvoda (44, 45). Kiseline uzrokuju koagulaciju proteina u površinskom epitelu oka, što usporava prodiranje u dublje segmente oka (46). Lužine stoga brže i dublje prodiru u zahvaćeno tkivo te samim time uzrokuju težu kliničku sliku od ozljeda kiselinom (47). Najčešće kiseline koje uzrokuju opekline oka su sumporna, klorovodična i fluorovodična (45).

U opeklini oka u početku dolazi do oštećenja površinskog epitela oka i adneksa. Uglavnom dolazi do razvoja epitelnog defekta rožnice koji može spontano zacijeliti ukoliko nije velik i ako nije zahvaćen limbus rožnice (46). Ukoliko opekline u velikoj mjeri zahvaća limbus, dolazi do razvoja deficijencije limbalnih matičnih stanica (LSCD), poremećenog cijeljenja i konjunktivalizacije rožnice (46).

Odmah po stabilizaciji pacijenta s kemijskom opeklinom oka treba se pristupiti obilnom ispiranju oka fiziološkom otopinom ili Ringerovim laktatom (48). Najčešće se upotrebljava standardni set za intravensku infuziju koji olakšava ispiranje, obzirom da se preporučuje korištenje minimalno 1 litre otopine barem 30 minuta. Također, obzirom na jaku bolnost koja je uobičajeno prisutna, koriste se topikalni anestetici (48). Nakon što prođe ova inicijalna faza liječenja kod lakih i umjereno teških opekline, bez zahvaćanja limbusa rožnice, koriste se topikalni kortikosteroidi i antibiotici. Steroidne kapi će smanjiti upalni odgovor tkiva rožnice što će ubrzati cijeljenje epitela. Kod težih ozljeda se koriste i topikalni natrijev citrat te oralni tetraciklini (48). Različita istraživanja su pokazala korist ovih lijekova u prevenciji nastanka rožničnih ulkusa (49, 50).

Presadci amnijske membrane često se koriste kao adjuvantni modalitet liječenja kod težih opekline. Presadci se za okolno tkivo mogu pričvrstiti šivanjem, a postoji i bešavna tehnika u kojoj se veliki presadak umetne ispod vjeđa te ga pridržava simblefaronski prsten. Ova tehnika se u jednoj kliničkoj studiji pokazala boljom od šivanja (51). Unatoč činjenici da brojni autori preporučaju korištenje amnijske membrane za opekline oka, nedostaju čvrsti dokazi za njenu učinkovitost u ovoj indikaciji. Jedna randomizirana klinička studija nije našla statistički značajnu razliku u ishodima liječenja naspram konvencionalnog liječenja (52).

#### 5.4. DEFICIJENCIJA LIMBALNIH MATIČNIH STANICA

Epitel rožnice se, poput ostalih površinskih epitela, kontinuirano ljušti i obnavlja. Izvor matičnih stanica koje će proliferirati u zrele epitelne stanice i migrirati u ostala područja nalazi se u limbusu rožnice, cirkularnom području u kojem se spajaju rožnica i bjeloočnica. Oštećenje limbusa dovodi do smanjene količine, odnosno deficijencije limbalnih matičnih stanica (LSCD, *limbal stem cell deficiency*), što onemogućava normalan proces reepitelizacije površinskih oštećenja rožnice i dovodi do prerastanja spojničnog epitela preko rožnice, odnosno konjunktivalizacije rožnice (53). Konjunktivalizacija dovodi do zamućenja i vaskularizacije rožnice, što rezultira smanjenjem oštine vida, fotofobijom i pojačanom bolnošću (54).

Etiološka pozadina LSCD je raznovrsna, a najčešći uzroci stečene LSCD su kemijske i toplinske opekline, SJS/TEN te pemfigoid mukoznih membrana (53, 55). LSCD se vrlo rijetko javlja i u kongenitalnom obliku, najčešće uz aniridiju ili kod nekih od sindroma ektodermalne displazije, poput EEC sindroma (*ectrodactyly-ectodermal dysplasia-clefting syndrome*) (53, 55).

Brojne su mogućnosti liječenja LSCD. Konzervativne opcije su korištenje terapijskih kontaktnih leća, kapi autolognog seruma te lubrikacija oka. Kirurški pristup uključuje otklanjanje preraslog spojničnog epitela (rožnični *scraping*) nakon čega se transplantira amnijska membrana. Ona svojim učinkom na epitelizaciju tkiva pridonosi regeneraciji površine rožnice te smanjuje simptome bolesti (56).

Kod težih oblika LSCD potrebno je presaditi same matične stanice jer su njihove zalihe u potpunosti iscrpljene. Limbalne matične stanice mogu se, korištenjem konjunktivalnog nosača, presaditi sa zdravog kontralateralnog oka (autograft) ili sa zdravog donora (alograf) (55). Postoji i mogućnost *ex vivo* uzgajanja matičnih stanica na amnijskoj membrani, o čemu će biti više riječi u posljednjem poglavlju.

## 5.5. NEUROTROFIČNA KERATOPATIJA

Neurotrofična keratopatija, ili neurotrofični keratitis (NK), rijetka je degenerativna bolest rožnice. Ona nastaje uslijed smanjene osjetne inervacije rožnice, a rezultira poremećajem regeneracije rožničnog epitela.

Površinu rožnice, koja je najgušće inervirana struktura u ljudskom tijelu (57), živčanim vlaknima opskrbljuje oftalmička grana trigeminalnog živca. Normalna inervacija rožnice neophodna je za integritet rožničnog epitela, ne samo zbog aktivacije protektivnih očnih refleksa, već i zbog lučenja različitih faktora rasta (58). Postoje brojni uzroci oštećenja inervacije rožnice, a neki od najčešćih su diabetes mellitus, oftalmički zoster, jatrogeno ili traumatsko oštećenje trigeminalnog živca, kemijske opekline i produljeno nošenje kontaktnih leća (59).

Klinička slika NK je nespecifična, a vrlo često upravo zbog oslabljene inervacije, simptomi u potpunosti izostaju. Ukoliko ipak postoje, najčešći simptomi su crvenilo oka, osjetljivost na svjetlost te osjećaj neugode i suhoće očiju (60). Ovisno o morfološkim značajkama, NK se klasificira u tri stadija (klasifikacija po Mackieju) (59).

Postoje mnoge opcije liječenja NK, a neke od mogućnosti za prvi i drugi stadij NK uključuju korištenje umjetnih suza, terapijskih kontaktnih leća, topičkog autolognog seruma, tarzorafiju te injekcije botulinum toksina (59). U terapiji umjereno teških oblika NK koristi se i cenegermin. Taj lijek, koji je u Europskoj uniji odobren u 2017. godine, je rekombinantni živčani faktor rasta (NGF, *nerve growth factor*) koji se primjenjuje u obliku kapi (61). Liječenje trećeg stadija NK (ulkus rožnice) može biti vrlo kompleksno, a upravo je jedan od najčešće korištenih zahvata transplantacija amnijske membrane. Transplantacija AM ubrzava proces reepitelizacije rožnice, smanjuje intenzitet eventualnih simptoma te pridonosi poboljšanju oštrine vida (62).

## 5.6. PTERIGIJ

Pterigij (od grčkog pterygos, krilo) je benigna krilasta izraslina fibrovaskularnog tkiva bulbarne spojnice koja raste preko rožnice. Ova izraslina svojim rastom može opstruirati vidnu os, dovesti do astigmatizma te promjena u funkciji suznog aparata (63, 64). Jasno je da uslijed ovih promjena pterigij može dovesti do težih poremećaja u vidnoj funkciji oboljelih, a također može uzrokovati i kroničnu neugodu i iritaciju. Pterigij je važno razlikovati od površinske neoplazme oka (OSSN, ocular surface squamous neoplasia). Ova dva entiteta izgledom su vrlo slična tako da se u slučaju sumnje na OSSN vrši biopsija tkiva (65).

Dokazano je da je glavni rizični čimbenik za razvoj pterigija izloženost ultraljubičastim (UV) zrakama (66). Iako patogeneza ove bolesti nije u potpunosti razjašnjena, smatra se kako UVA i UVB zrake svojim djelovanjem dovode do oštećenja DNA i nekontrolirane proliferacije stanica. Ovaj učinak se ponajprije ostvaruje stvaranjem reaktivnih vrsta kisika i abnormalnom ekspresijom p53 tumor supresor gena (63, 67). Čak i neke epidemiološke studije potvrđuju ovu hipotezu, pa je tako Cameron opisao da je prevalencija pterigija najveća u takozvanom "pojasu pterigija", koji obuhvaća područja koja su između 37° sjeverno i 37° južno od ekvatora (68). Dodatni rizični čimbenici za razvoj bolesti su pojavljivanje u obitelji (69) te infekcija HPV-om i HSV-om (70).

Konzervativne opcije liječenja pterigija su skromne, a uglavnom uključuju lubrikaciju površine oka te korištenje naočala sa zaštitom od UV zraka (67). Glavne indikacije za kirurško liječenje pterigija su (71):

- Kompromitiran integritet vidne osi
- Astigmatizam koji smanjuje vidnu oštrinu
- Smanjena pokretljivost bulbusa
- Sumnja na displaziju
- Rast lezije (dokumentiran od strane liječnika)

Elektivnom kirurškom liječenju može se pristupiti i zbog estetskih razloga ili trajne neugode i iritacije oka (71). Obzirom na relativno visoku stopu postoperativnog povratka pterigija (ukoliko se učini samo ekscizija pterigija, stopa rekurencije doseže do 80%), izbor kirurške tehnike ponajprije ovisi o njoj. Zlatnim standardom smatra se ekscizija pterigija s konjunktivalnim autograftom, u kojem se nakon odstranjivanja pterigija površinski defekt prekriva s presatkom priležeće spojnice (72). Ovaj pristup ima najnižu stopu rekurencije, ispod 15% za primarni pterigij (64).

Transplantacija amnijske membrane također se može koristiti u liječenju pterigija, tako da se po eksciziji lezije defekt prekriva presatkom. Ipak, nekolicina radova pokazala je da je ekscizija s konjunktivalnim autograftom bolji izbor za većinu pacijenata. U sistematskoj meta-analizi 20 kliničkih studija uspoređene su ove dvije tehnike te rezultati pokazuju da su stope rekurencije pterigija niže poslije ekscizije s konjunktivalnim autograftom u usporedbi s ekscizijom i transplantacijom amnijske membrane (72). Ipak, u nekim se situacijama ova tehnika unatoč višim stopama rekurencije preferira. Primjer su pacijenti s glaukomom u kojih je integritet spojnice važan za potencijalne glaukomske zahvate u budućnosti (73).

## 5.7. STEVENS–JOHNSONOV SINDROM I TOKSIČNA EPIDERMALNA NEKROLIZA

Stevens-Johnson sindrom (SJS) i toksična epidermalna nekroliza (TEN) teške su mukokutane reakcije preosjetljivosti. Karakterizirane su eritematoznim i erozivnim lezijama na koži i sluznicama, a u težim oblicima se mogu javiti i oštećenja unutarnjih organa, poput jetre i bubrega (74). SJS i TEN su u biti dva klinička entiteta s istom kliničkom slikom i patofiziološkim značajkama, a razlikuju se samo po udjelu površine tijela (BSA, body surface area) na kojem se vidi odvajanje epidermisa (75):

	BSA sa odvajanjem epidermisa
SJS	<10 %
SJS/TEN preklapanje	10-30 %
TEN	>30 %

Patogeneza SJS/TEN još uvijek nije u potpunosti razjašnjena, no smatra se kako se radi se o reakciji preosjetljivosti tipa IV, gdje lijekovi ili njihovi metaboliti dovode do aktivacije T-stanica. Mnogobrojni lijekovi mogu dovesti do nastanka SJS/TEN, no najčešće se spominju antiepileptici, alopurinol te antibiotici, posebice sulfonamidi (76). Iako su u patogenezu SJS/TEN najčešće uključeni lijekovi, u rijetkim slučajevima se ova bolest može javiti i nakon infekcije različitim patogenima, poput *Mycoplasma pneumoniae* ili HSV-a (77).

Zahvaćenost očiju se javlja u većine pacijenata sa SJS/TEN (78, 79), a obzirom na tijek bolesti možemo ju podijeliti na akutni i kronični okularni SJS/TEN.

U akutnom okularnom SJS/TEN, koji traje oko dva tjedna a može i prethoditi kožnim promjenama, a između ostalog javljaju se teški konjunktivitis s purulentnim iscjetkom, konjunktivalno krvarenje, formacija pseudomembrana na spojnici, simblefaron i defekti površinskog epitela rožnice (79). Ključno je agresivno liječiti okularnu bolest od samog početka kako bi se izbjeglo stvaranje kroničnih promjena. Provodi se svakodnevno ispiranje očiju s fiziološkom otopinom te se koriste topikalni kortikosteroidi i antibiotici. Također se vrši redovna lubrikacija očiju i odstranjenje pseudomembrana (78). Transplantacija amnijske membrane u liječenju akutnog okularnog SJS/TEN prvi je puta opisana 2002. godine (80), a od tada su brojni radovi i nekoliko kliničkih studija (81, 82) pokazali da ona smanjuje rizik od dugoročnih komplikacija i smanjenja vidne oštine. Nekoliko je kirurških tehnika opisano za ovu indikaciju. Jedna uključuje šivanje većeg presatka amnijske membrane (veličine 5x10 cm) za gornju i donju vjeđu te postavljanje tzv. simblefaronskog prstena koji osigurava

ispravno pozicioniranje presatka (83). Postoji i slična tehnika koja ne zahtijeva anesteziju, a u kojoj se amnijska membrana fiksira za vjeđe uporabom cijanoakrilatnog ljepila (84).

Unatoč liječenju akutnog oblika, u 30-50% pacijenata javljaju se kronične sekvele okularnog SJS/TEN (78). One mogu biti teške i ugrožavati vid pacijenata, a neke od njih su simblefaron, entropij i ektropij, lagoftalmus, trihijaza, konjunktivalna keratinizacija, perzistirajući epitelni defekt rožnice i LSCD (78). Liječenje svih ovih komplikacija je različito, a otegotna okolnost je činjenica da je okularni SJS/TEN uobičajeno bilateralni proces, što smanjuje terapijske opcije. U dijelu pacijenata s tzv. *end-stage* oblikom bolesti pristupa se ugradnji Boston keratoproteze kao pokušaj očuvanja vidne funkcije (85).

## 5.8. TUMORI SPOJNICE

Tumori spojnice su velika i heterogena skupina različitih novotvorina. Ti tumori pokazuju veliku varijabilnost u vidu malignosti i agresivnosti te u histološkom tipu. Tako se na spojnici između ostalih mogu javiti lezije epitelnog i mezenhimalnog porijekla, limfomi i melanomi. Također, iako rijetko, spojnica može biti mjesto metastaziranja, najčešće karcinoma dojke i pluća (86). Spojnica je specifična po tome što je to jedina mukozna membrana koja je parcijalno izložena sunčevoj svjetlosti, što ima utjecaja na patogenezu i frekvenciju određenih tipova tumora (87). Otprilike polovicu novotvorina spojnice čine benigni tumori (52%), 18% premaligne lezije, a 30% maligni tumori (86). Najčešći tumori spojnice su nevusi (23% svih), a od malignih su najčešći OSSN (Ocular surface squamous neoplasia, 14% svih), melanomi (12% svih) te limfomi (7% svih) (86).

Neoplazme spojnice se razlikuju svojim izgledom ovisno o tipu, te je u većini slučajeva, zbog činjenice da je spojnica dostupna za pregled, lako razlikovati benigne od malignih lezija. Ukoliko je ipak potrebno učiniti biopsiju zbog sumnje na malignost lezije, obično se postupa po sljedećem principu: ukoliko je lezija manja od 15 mm vrši se ekscizijska biopsija, to jest lezija se u cijelosti uklanja. Ako je lezija veća od 15 mm, vrši se biopsija manjeg dijela tumora, jer će o patohistološkom nalazu ovisiti opseg eventualnog kirurškog liječenja (87). Kao dodatna metoda liječenja se nerijetko koristi intraoperativna krioterapija na rubovims ekscizije (88), što smanjuje rizik od pojave mikroskopskih metastaza i posljedičnog recidiva bolesti.

Ukoliko su u pitanju veliki i prošireni tumori, nakon ekscizije ostaje veći defekt spojnice koji je potrebno prekriti. Za tu se svrhu najčešće koristi upravo transplantacija amnijske membrane (87). Presadak se postavlja preko defekta s epitelnom stranom prema



gore te se šiva za okolnu spojnicu resorptivnim Vicryl koncem (89). Obzirom da presadak amnijske membrane potiče reepitelizaciju okolnog tkiva spojnice, omogućava se ekscizija sa širokim rubovima, što smanjuje mogućnost recidiva bolesti i daje odlične dugoročne rezultate (90).

U liječenju tumora spojnice također se uspješno koristi i topikalna terapija, bilo samostalno bilo kao postoperativno adjuvantno liječenje. Najčešće se koriste mitomicin, 5-fluorouracil i interferon- $\alpha$ 2b (91). Topikalno liječenje se pokazalo posebno korisnim za difuzne ili multifokalne lezije za koje je kirurško liječenje komplicirano (92).

## 6. SUVREMENE TEHNIKE KORIŠTENJA AMNIJSKE MEMBRANE

### 6.1. EKSTRAKT AMNIJSKE MEMBRANE

Ekstrakt amnijske membrane (AME, Amniotic membrane extract) na tržištu je dostupan u obliku kapi za oči. AME sadrži visoku koncentraciju čimbenika rasta i ostalih molekula koje su prisutne u amnijskoj membrani, a odgovorni su za reepitelizacijski i antifibrozijski učinak, poput HGF, bFGF te HC-HA/PTX3 (93). Ekstrakt se može pripremiti na više različitih načina, a najčešće se radi homogenizacija ili pulverizacija krioprezervirane amnijske membrane (93). Preparat je najčešće dostupan u obliku praha koji se čuva na sobnoj temperaturi, a prije upotrebe se rekonstituira s fiziološkom otopinom (39).

Obzirom na činjenicu da se ekstrakt koristi u obliku kapi za oči, vrlo je jednostavan za upotrebu te je omogućeno produljeno liječenje koje se može nastaviti sve do zadovoljavajućeg terapijskog odgovora (93). Također, izbjegava se potreba za kirurškim liječenjem te pacijenti mogu sami primjenjivati kapi. AME se koristi i kao adjuvantno liječenje nakon transplantacije amnijske membrane s ciljem produljenog djelovanja korisnih trofičkih čimbenika (93). AME je uspješno primijenjen u brojnim indikacijama, poput perzistentnog epitelnog defekta (94), kemijskih opekлина (95) te kronične suhoće očiju (96).

Iako je većina manjih kliničkih studija pokazala pozitivne rezultate pri primjeni AME u oftalmološkim indikacijama, još uvijek nedostaju veći kontrolirani klinički pokusi. Također, metode proizvodnje AME nisu standardizirane te treba utvrditi najbolju među njima (94).

### 6.2. KULTIVACIJA LIMBALNIH EPITELNIH STANICA

Kao što je rečeno u poglavlju 5.4., jedna od terapijskih mogućnosti za liječenje teškog oblika LSCD je transplantacija kultiviranih limbalnih matičnih stanica. Zdrave matične stanice mogu se uzeti s pacijentovog kontralateralnog oka ili u slučaju bilateralnog LSCD s oka živog donora ili kadavera (97). One se zatim mogu kultivirati na različitim nosačima, a najčešće se koristi amnijska membrana (98). Amnijska membrana se također može prije nasađivanja matičnih stanica tretirati različitim tvarima kako bi se poboljšala njena fizikalno-kemijska svojstva i samim time pospješio rast matičnih stanica. Neke od kemijskih tvari koje se u tu svrhu koriste su glutaraldehid (99) i aluminijev sulfat (100). Izuzev amnijske membrane, kao nosač za uzgoj limbalnih matičnih stanica koriste se i mnogi drugi biološki i sintetski materijali, neki od kojih su fibrinska membrana (101) i poli( $\epsilon$ -kaprolakton) (102). Nakon

kultivacije, pristupa se presađivanju novonastalih matičnih stanica skupa s nosačem na oko zahvaćeno s LSCD.

## 7. ZAKLJUČAK

Transplantacija amnijske membrane izuzetno je korisna metoda liječenja kompliciranih oblika mnogih oftalmoloških bolesti. Mnogobrojne kliničke studije su pokazale dobre kliničke ishode za različite indikacije, a relativna jednostavnost kirurških tehnika, niska učestalost komplikacija i kvalitetne metode prezervacije doprinose sve većoj primjeni amnijske membrane u oftalmologiji.

Daljnji razvoj još manje invazivnih metoda korištenja, poput već spomenutog ekstrakta amnijske membrane ili proizvoda koji su već spremni za ugradnju bez potrebe za šivanjem, omogućava korištenje i u ambulantnim uvjetima, brži oporavak i dobre kliničke ishode. Ovakvi proizvodi predstavljaju dobru alternativu, osobito za pacijente u sredinama gdje je smanjen pristup visokospecijaliziranoj kirurškoj skrbi. Razvoj tehnika prezervacije, poput dehidracije, omogućit će jednostavniji transport i pohranu transplantata te također pridonijeti većoj dostupnosti.

Iako su biološka svojstva amnijske membrane već donekle poznata, potrebna su daljnja istraživanja njenih molekularnih značajki kako bi se maksimalno iskoristio potencijal u kliničkoj primjeni. Također je potrebno provesti još kliničkih studija, osobito za indikacije u kojima se amnijska membrana sporadično koristi, kako bi se utvrdila učinkovitost i sigurnost njene primjene.

## 8. LITERATURA

1. Davis JS. II. Skin grafting at the Johns Hopkins Hospital. *Ann Surg.* 1909 Sep;50(3):542-9.
2. de Roth A. Plastic repair of conjunctival defects with fetal membranes. *Arch Ophthalmol.* 1940;23(3):522–525.
3. Kim JC, Tseng SC. Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit corneas. *Cornea.* 1995 Sep;14(5):473-84
4. Munoz-Torres JR, Martínez-González SB, Lozano-Luján AD, Martínez-Vázquez MC, Velasco-Elizondo P, Garza-Veloz I et al. Biological properties and surgical applications of the human amniotic membrane. *Front Bioeng Biotechnol.* 2023 Jan 9;10
5. Grbeša Đ. Razvoj i građa posteljice. u: Đelmiš J, Orešković S i sur., ur. *Fetalna medicina i opstetricija.* Zagreb: Medicinska naklada; 2014. 62-75.
6. Mamede AC, Carvalho MJ, Abrantes AM, Laranjo M, Maia CJ, Botelho MF. Amniotic membrane: from structure and functions to clinical applications. *Cell Tissue Res.* 2012 Aug;349(2):447-58.
7. BOURNE GL. The microscopic anatomy of the human amnion and chorion. *Am J Obstet Gynecol.* 1960 Jun;79:1070-3.
8. Srinivasan RC, Strom SC, Gramignoli R. Effects of Cryogenic Storage on Human Amnion Epithelial Cells. *Cells.* 2020 Jul 15;9(7):1696.
9. Dadkhah Tehrani F, Firouzeh A, Shabani I, Shabani A. A Review on Modifications of Amniotic Membrane for Biomedical Applications. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021
10. Walkden A. Amniotic Membrane Transplantation in Ophthalmology: An Updated Perspective. *Clin Ophthalmol.* 2020 Jul 22;14:2057-2072.
11. Li H, Niederkorn JY, Neelam S, Mayhew E, Word RA, McCulley JP, Alizadeh H. Immunosuppressive factors secreted by human amniotic epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005 Mar;46(3):900-7.
12. Lee SB, Li DQ, Tan DT, Meller DC, Tseng SC. Suppression of TGF-beta signaling in both normal conjunctival fibroblasts and pterygial body fibroblasts by amniotic membrane. *Curr Eye Res.* 2000 Apr;20(4):325-34.
13. Schmiedova I, Dembickaja A, Kiselakova L, Nowakova B, Slama P. Using of Amniotic Membrane Derivatives for the Treatment of Chronic Wounds. *Membranes (Basel).* 2021 Nov 29;11(12):941.

14. Meller D, Pauklin M, Thomasen H, Westekemper H, Steuhl KP. Amniotic membrane transplantation in the human eye. *Dtsch Arztebl Int.* 2011 Apr;108(14):243-8.
15. Malhotra C, Jain AK. Human amniotic membrane transplantation: Different modalities of its use in ophthalmology. *World J Transplant.* 2014 Jun 24;4(2):111-21.
16. Tseng SC, Prabhasawat P, Lee SH. Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. *Am J Ophthalmol.* 1997 Dec;124(6):765-74.
17. Hofmann N, Rennekampff HO, Salz AK, Börgel M. Preparation of human amniotic membrane for transplantation in different application areas. *Frontiers in Transplantation.* 2023 May 5;2.
18. Witt J, Grumm L, Salla S, Geerling G, Menzel-Severing J. Cryopreservation in a Standard Freezer: -28 °C as Alternative Storage Temperature for Amniotic Membrane Transplantation. *J Clin Med.* 2022 Feb 19;11(4):1109.
19. Chua L, Cooke M, Mandrycky C, Tan EK, O'Connell J, Tseng S et al. Biological Differences between Cryopreserved and Dehydrated Amniotic Membrane Tissue Grafts. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2013;54(15):3894.
20. Thomasen H, Pauklin M, Steuhl KP, Meller D. Comparison of cryopreserved and air-dried human amniotic membrane for ophthalmologic applications. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2009 Dec;247(12):1691-700.
21. Huang YH, Tsai DC, Wang LC, Chen SJ. Comparison between Cryopreserved and Dehydrated Human Amniotic Membrane Graft in Treating Challenging Cases with Macular Hole and Macular Hole Retinal Detachment. *J Ophthalmol.* 2020 Jul 7;2020:9157518.
22. Sell S, de la Presa M, Thakur S, Eslani M, Jeffrey J, Sheppard JD, Holland EJ, Cheung AY. Comparison of Persistent Epithelial Defect Treatment With Sutureless Cryopreserved and Dehydrated Amniotic Membrane. *Am J Ophthalmol.* 2023 Jul;251:32-42.
23. Dhall S, Sathyamoorthy M, Kuang JQ, Hoffman T, Moorman M, Lerch A et al. Properties of viable lyopreserved amnion are equivalent to viable cryopreserved amnion with the convenience of ambient storage. *PLoS One.* 2018 Oct 2;13(10):e0204060.
24. Nakamura T, Sekiyama E, Takaoka M, Bentley AJ, Yokoi N, Fullwood NJ et al. The use of trehalose-treated freeze-dried amniotic membrane for ocular surface reconstruction. *Biomaterials.* 2008 Sep;29(27):3729-3737.
25. Allen CL, Clare G, Stewart EA, Branch MJ, McIntosh OD, Dadhwal M et al. Augmented dried versus cryopreserved amniotic membrane as an ocular surface dressing. *PLoS One.* 2013 Oct 30;8(10):e78441.

26. Linhares ACB, Martinelli AC, Ghem MRD, Dias PB, Wasilewski D. Amniotic membrane transplantation for neurotrophic corneal ulcers. *Arq Bras Oftalmol.* 2024 Mar 4;87(2):e20220341.
27. Dua HS, Azuara-Blanco A. Amniotic membrane transplantation. *Br J Ophthalmol.* 1999 Jun;83(6):748-52.
28. Hao Y, Ma DH, Hwang DG, Kim WS, Zhang F. Identification of antiangiogenic and antiinflammatory proteins in human amniotic membrane. *Cornea.* 2000 May;19(3):348-52.
29. Röck T, Bartz-Schmidt KU, Landenberger J, Bramkamp M, Röck D. Amniotic Membrane Transplantation in Reconstructive and Regenerative Ophthalmology. *Ann Transplant.* 2018 Mar 6;23:160-165.
30. Vaidyanathan U, Hopping GC, Liu HY, Somani AN, Ronquillo YC, Hoopes PC et al. Persistent Corneal Epithelial Defects: A Review Article. *Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol.* 2019 Fall;8(3):163-176.
31. Cathcart JM, Cao J. MMP Inhibitors: Past, present and future. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2015 Jun 1;20(7):1164-78.
32. Mimouni M, Liu ES, Din N, Gouvea L, Alshaker S, Cohen E et al. Tape Splint Tarsorrhaphy for Persistent Corneal Epithelial Defects. *Am J Ophthalmol.* 2022 May;237:235-240.
33. Mimouni M, Trinh T, Sorkin N, Cohen E, Santaella G, Rootman DS et al. Sutureless dehydrated amniotic membrane for persistent epithelial defects. *Eur J Ophthalmol.* 2021 Apr 22:11206721211011354.
34. Choi CM, Jeon HS. Clinical Outcomes of In-office Sutureless Amniotic Membrane Transplantation in Persistent Epithelial Defect. *Korean J Ophthalmol.* 2022 Apr;36(2):87-96.
35. Ung L, Acharya NR, Agarwal T, Alfonso EC, Bagga B, Bispo PJ et al. Infectious corneal ulceration: a proposal for neglected tropical disease status. *Bull World Health Organ.* 2019 Dec 1;97(12):854-856.
36. Cabrera-Aguas M, Khoo P, Watson SL. Infectious keratitis: A review. *Clin Exp Ophthalmol.* 2022 Jul;50(5):543-562.
37. Watson S, Cabrera-Aguas M, Khoo P. Common eye infections. *Aust Prescr.* 2018 Jun;41(3):67-72.
38. Tabbara KF, Al Balushi N. Topical ganciclovir in the treatment of acute herpetic keratitis. *Clin Ophthalmol.* 2010 Aug 19;4:905-12.
39. Baig IF, Le NT, Al-Mohtaseb Z. Amniotic membrane transplantation: an updated clinical review for the ophthalmologist. *Ann Eye Sci.* 2023 Jun 8

40. Yin J, Singh RB, Al Karmi R, Yung A, Yu M, Dana R. Outcomes of Cyanoacrylate Tissue Adhesive Application in Corneal Thinning and Perforation. *Cornea*. 2019 Jun;38(6):668-673.
41. Yin HY, Cheng AMS, Tighe S, Kurochkin P, Nord J, Dhanireddy S et al. Self-retained cryopreserved amniotic membrane for treating severe corneal ulcers: a comparative, retrospective control study. *Sci Rep*. 2020 Oct 12;10(1):17008.
42. Ting DSJ, Henein C, Said DG, Dua HS. Amniotic membrane transplantation for infectious keratitis: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2021 Jun 21;11(1):13007.
43. Heiligenhaus A, Li H, Hernandez Galindo EE, Koch JM, Steuhl KP, Meller D. Management of acute ulcerative and necrotising herpes simplex and zoster keratitis with amniotic membrane transplantation. *Br J Ophthalmol*. 2003 Oct;87(10):1215-9.
44. Pargament JM, Armenia J, Nerad JA. Physical and chemical injuries to eyes and eyelids. *Clin Dermatol*. 2015 Mar-Apr;33(2):234-7
45. Haring RS, Sheffield ID, Channa R, Canner JK, Schneider EB. Epidemiologic Trends of Chemical Ocular Burns in the United States. *JAMA Ophthalmol*. 2016 Oct 1;134(10):1119-1124.
46. Eslani M, Baradaran-Rafii A, Movahedan A, Djalilian AR. The ocular surface chemical burns. *J Ophthalmol*. 2014;2014:196827.
47. Said DG, Dua HS. Chemical burns acid or alkali, what's the difference? *Eye (Lond)*. 2020 Aug;34(8):1299-1300.
48. Bizrah M, Yusuf A, Ahmad S. An update on chemical eye burns. *Eye (Lond)*. 2019 Sep;33(9):1362-1377.
49. Pfister RR, Haddox JL, Lank KM. Citrate or ascorbate/citrate treatment of established corneal ulcers in the alkali-injured rabbit eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1988 Jul;29(7):1110-5
50. Ralph RA. Tetracyclines and the treatment of corneal stromal ulceration: a review. *Cornea*. 2000 May;19(3):274-7.
51. Liang X, Liu Z, Lin Y, Li N, Huang M, Wang Z. A modified symblepharon ring for sutureless amniotic membrane patch to treat acute ocular surface burns. *J Burn Care Res*. 2012 Mar-Apr;33(2):e32-8.
52. Eslani M, Baradaran-Rafii A, Cheung AY, Kurji KH, Hasani H, Djalilian AR et al. Amniotic Membrane Transplantation in Acute Severe Ocular Chemical Injury: A Randomized Clinical Trial. *Am J Ophthalmol*. 2019 Mar;199:209-215
53. Sejpal K, Bakhtiari P, Deng SX. Presentation, diagnosis and management of limbal stem cell deficiency. *Middle East Afr J Ophthalmol*. 2013 Jan-Mar;20(1):5-10.



54. Holland EJ. Epithelial transplantation for the management of severe ocular surface disease. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1996;94:677-743.
55. Haagdoorens M, Van Acker SI, Van Gerwen V, Ní Dhubhghaill S, Koppen C, Tassignon MJ et al. Limbal Stem Cell Deficiency: Current Treatment Options and Emerging Therapies. *Stem Cells Int.* 2016;2016:9798374.
56. Anderson DF, Ellies P, Pires RT, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for partial limbal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol.* 2001 May;85(5):567-75.
57. Shaheen BS, Bakir M, Jain S. Corneal nerves in health and disease. *Surv Ophthalmol.* 2014 May-Jun;59(3):263-85.
58. Versura P, Giannaccare G, Pellegrini M, Sebastiani S, Campos EC. Neurotrophic keratitis: current challenges and future prospects. *Eye Brain.* 2018 Jun 28;10:37-45.
59. NaPier E, Camacho M, McDevitt TF, Sweeney AR. Neurotrophic keratopathy: current challenges and future prospects. *Ann Med.* 2022 Dec;54(1):666-673.
60. Murray LT, McCormack J, Grobeiu I, Wiklund I, Kimel M, Van Nooten F. Development of the neurotrophic keratopathy questionnaire: qualitative research. *J Patient Rep Outcomes.* 2020 May 4;4(1):30.
61. Pflugfelder SC, Massaro-Giordano M, Perez VL, Hamrah P, Deng SX, Espandar L et al. Topical Recombinant Human Nerve Growth Factor (Cenegermin) for Neurotrophic Keratopathy: A Multicenter Randomized Vehicle-Controlled Pivotal Trial. *Ophthalmology.* 2020 Jan;127(1):14-26.
62. Mead OG, Tighe S, Tseng SCG. Amniotic membrane transplantation for managing dry eye and neurotrophic keratitis. *Taiwan J Ophthalmol.* 2020 Mar 4;10(1):13-21.
63. Linaburg T, Choi D, Bunya VY, Massaro-Giordano M, Briceño CA. Systematic Review: Effects of Pterygium and Pingueculum on the Ocular Surface and Efficacy of Surgical Excision. *Cornea.* 2021 Feb 1;40(2):258-267.
64. Shahraki T, Arabi A, Feizi S. Pterygium: an update on pathophysiology, clinical features, and management. *Ther Adv Ophthalmol.* 2021 May 31;13:25158414211020152.
65. Habibalahi A, Allende A, Michael J, Anwer AG, Campbell J, Mahbub SB et al. Pterygium and Ocular Surface Squamous Neoplasia: Optical Biopsy Using a Novel Autofluorescence Multispectral Imaging Technique. *Cancers (Basel).* 2022 Mar 21;14(6):1591.
66. Threlfall TJ, English DR. Sun exposure and pterygium of the eye: a dose-response curve. *Am J Ophthalmol.* 1999 Sep;128(3):280-7.
67. Chu WK, Choi HL, Bhat AK, Jhanji V. Pterygium: new insights. *Eye (Lond).* 2020 Jun;34(6):1047-1050.
68. Cameron M. Pterygium Throughout the World. *Arch Ophthalmol.* 1965;74(2):288.

69. Romano V, Steger B, Kovacova A, Kaye SB, Willoughby CE. Further evidence for heredity of pterygium. *Ophthalmic Genet.* 2016 Dec;37(4):434-436.
70. Detorakis ET, Drakonaki EE, Spandidos DA. Molecular genetic alterations and viral presence in ophthalmic pterygium. *Int J Mol Med.* 2000 Jul;6(1):35-41
71. Hall AB. Understanding and managing pterygium. *Community Eye Health.* 2016;29(95):54-56.
72. Clearfield E, Muthappan V, Wang X, Kuo IC. Conjunctival autograft for pterygium. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016 Feb 11;2(2):CD011349.
73. Katbaab A, Anvari Ardekani HR, Khoshniyat H, Jahadi Hosseini HR. Amniotic membrane transplantation for primary pterygium surgery. *J Ophthalmic Vis Res.* 2008 Jan;3(1):23-7.
74. Hasegawa A, Abe R. Recent advances in managing and understanding Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *F1000Res.* 2020 Jun 16;9:F1000 Faculty Rev-612.
75. Lerch M, Mainetti C, Terziroli Beretta-Piccoli B, Harr T. Current Perspectives on Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2018 Feb;54(1):147-176.
76. Frantz R, Huang S, Are A, Motaparathi K. Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis: A Review of Diagnosis and Management. *Medicina (Kaunas).* 2021 Aug 28;57(9):895.
77. Harr T, French LE. Toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome. *Orphanet J Rare Dis.* 2010 Dec 16;5:39.
78. Metcalfe D, Iqbal O, Chodosh J, Bouchard CS, Saeed HN. Acute and Chronic Management of Ocular Disease in Stevens Johnson Syndrome/Toxic Epidermal Necrolysis in the USA. *Front Med (Lausanne).* 2021 Jul 12;8:662897.
79. Abrol A, Gulanikar A, Thakre S, Patel A. Study of Ocular Manifestations of Stevens-Johnson Syndrome/Toxic Epidermal Necrolysis. *Indian Dermatol Online J.* 2020 Jul 13;11(4):570-574.
80. John T, Foulks GN, John ME, Cheng K, Hu D. Amniotic membrane in the surgical management of acute toxic epidermal necrolysis. *Ophthalmology.* 2002 Feb;109(2):351-60.
81. Mortensen XM, Shenkute NT, Zhang AY, Banna H. Clinical Outcome of Amniotic Membrane Transplant in Ocular Stevens-Johnson Syndrome/Toxic Epidermal Necrolysis at a Major Burn Unit. *Am J Ophthalmol.* 2023 Dec;256:80-89.
82. Sharma N, Thenarasun SA, Kaur M, Pushker N, Khanna N, Agarwal T et al. Adjuvant Role of Amniotic Membrane Transplantation in Acute Ocular Stevens-Johnson Syndrome: A Randomized Control Trial. *Ophthalmology.* 2016 Mar;123(3):484-91.

83. Ma KN, Thanos A, Chodosh J, Shah AS, Mantagos IS. A Novel Technique for Amniotic Membrane Transplantation in Patients with Acute Stevens-Johnson Syndrome. *Ocul Surf.* 2016 Jan;14(1):31-6.
84. Shanbhag SS, Chodosh J, Saeed HN. Sutureless amniotic membrane transplantation with cyanoacrylate glue for acute Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis. *Ocul Surf.* 2019 Jul;17(3):560-564.
85. Alexander JK, Basak SK, Padilla MD, Yu F, Aldave AJ. International Outcomes of the Boston Type I Keratoprosthesis in Stevens-Johnson Syndrome. *Cornea.* 2015 Nov;34(11):1387-94.
86. Shields CL, Alset AE, Boal NS, Casey MG, Knapp AN, Sugarman JA et al. Conjunctival Tumors in 5002 Cases. Comparative Analysis of Benign Versus Malignant Counterparts. The 2016 James D. Allen Lecture. *Am J Ophthalmol.* 2017 Jan;173:106-133.
87. Shields CL, Shields JA. Tumors of the conjunctiva and cornea. *Indian J Ophthalmol.* 2019 Dec;67(12):1930-1948.
88. Low KL, Lai YP, Alias R, Che Hamzah J. Primary Basal Cell Carcinoma of the Conjunctiva. *Cureus.* 2022 Nov 14;14(11):e31516.
89. Röck T, Bösmüller HC, Bartz-Schmidt KU, Röck D. Surgical management of a conjunctival nevus with amniotic membrane transplantation. *Int Med Case Rep J.* 2018 Jul 27;11:161-165.
90. Palamar M, Kaya E, Egrilmez S, Akalin T, Yagci A. Amniotic membrane transplantation in surgical management of ocular surface squamous neoplasias: long-term results. *Eye (Lond).* 2014 Sep;28(9):1131-5.
91. Midena E, Frizziero L, Parrozzani R. Pharmacotherapy and Immunotherapy of Conjunctival Tumors. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila).* 2017 Mar-Apr;6(2):121-131.
92. Poothullil AM, Colby KA. Topical medical therapies for ocular surface tumors. *Semin Ophthalmol.* 2006 Jul-Sep;21(3):161-9.
93. Murri MS, Moshirfar M, Birdsong OC, Ronquillo YC, Ding Y, Hoopes PC. Amniotic membrane extract and eye drops: a review of literature and clinical application. *Clin Ophthalmol.* 2018 Jun 18;12:1105-1112.
94. Kordić R, Suić SP, Jandroković S, Kalauz M, Kuzman T, Skegro I, Jukić T. Application of the amniotic membrane extract (AMX) for the persistent epithelial defect (PED) of the cornea. *Coll Antropol.* 2013 Apr;37 Suppl 1:161-4.
95. Liang L, Li W, Ling S, Sheha H, Qiu W, Li C et al. Amniotic membrane extraction solution for ocular chemical burns. *Clin Exp Ophthalmol.* 2009 Dec;37(9):855-63.

96. Yeu E, Goldberg DF, Mah FS, Beckman KA, Luchs JI, Solomon JD et al. Safety and efficacy of amniotic cytokine extract in the treatment of dry eye disease. *Clin Ophthalmol*. 2019 May 27;13:887-894.
97. Barut Selver Ö, Yağcı A, Eğrilmez S, Gürdal M, Palamar M, Çavuşoğlu T et al. Limbal Stem Cell Deficiency and Treatment with Stem Cell Transplantation. *Turk J Ophthalmol*. 2017 Oct;47(5):285-291.ž
98. Baylis O, Figueiredo F, Henein C, Lako M, Ahmad S. 13 years of cultured limbal epithelial cell therapy: a review of the outcomes. *J Cell Biochem*. 2011 Apr;112(4):993-1002.
99. Lai JY, Ma DH. Glutaraldehyde cross-linking of amniotic membranes affects their nanofibrous structures and limbal epithelial cell culture characteristics. *Int J Nanomedicine*. 2013;8:4157-68.
100. Sekar S, Sasirekha K, Krishnakumar S, Sastry TP. A novel cross-linked human amniotic membrane for corneal implantations. *Proc Inst Mech Eng H*. 2013 Mar;227(3):221-8.
101. Rama P, Bonini S, Lambiase A, Golisano O, Paterna P, De Luca M et al. Autologous fibrin-cultured limbal stem cells permanently restore the corneal surface of patients with total limbal stem cell deficiency. *Transplantation*. 2001 Nov 15;72(9):1478-85
102. Sharma S, Gupta D, Mohanty S, Jassal M, Agrawal AK, Tandon R. Surface-modified electrospun poly(epsilon-caprolactone) scaffold with improved optical transparency and bioactivity for damaged ocular surface reconstruction. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014 Feb 12;55(2):899-907.

## **9. ZAHVALE**

Zahvaljujem se svojim roditeljima, sestri, bakama i djedovima na bezuvjetnoj ljubavi i podršci koju su mi pružili tijekom svih ovih godina života i školovanja. Bez njih zasigurno ne bih bio tu gdje danas jesam.

Zahvaljujem se svim svojim prijateljima i prijateljicama te kolegama i kolegicama na potpori i nebrojenim satima koje smo proveli i koje ćemo provesti zajedno. Bez njih moj život ne bi bio ispunjen užitkom i veseljem kao što jest.

Zahvaljujem se svojoj mentorici, doc. dr. sc. Sanji Masnec na uloženom vremenu, svim korisnim savjetima i pomoći tijekom pisanja ovog rada.

## 10. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 15.12.1998. u Zagrebu. 2017. godine upisujem studij medicine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. 2021. godine sam sudjelovao u međunarodnoj razmjeni studenata u sveučilišnoj bolnici Virgen del Rocio u Sevilli. Tijekom akademske godine 2022./2023. sam proveo jedan semestar na Sveučilištu Karlova u Pragu u sklopu Erasmus+ programa mobilnosti studenata. Tijekom akademske godine 2023./2024. radim u tvrtki Pliva Hrvatska d.o.o. u odjelu farmakovigilancije. Dobitnik sam Dekanove nagrade za postignut uspjeh u akademskoj godini 2018./2019. te 2022., kao član pjevačkog zbora studenata Medicinskog fakulteta „Lege Artis“, Dekanove nagrade za izniman doprinos ugledu Medicinskog fakulteta.