Ricardo Nunes Eliezer

**Utilização da membrana amniótica na
trabeculectomia para o tratamento do glaucoma
primário de ângulo aberto**

Tese apresentada a Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Oftalmologia

Orientador: Prof. Dr. Roberto Freire Santiago Malta

São Paulo

2006

DEDICATÓRIA

Ao meu pai, Dr. Coriolano Pompeu Eliezer,

À minha mãe, Thereza,

À minha esposa, Karina

À minha irmã, Márcia e meus irmãos, Maurício e Marcelo

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Roberto Freire Santiago Malta, assistente do serviço de Glaucoma do Departamento de Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo;
 - Ao Prof. Dr. Newton Kara José, Chefe do Departamento de Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo;
 - Ao Prof. Dr. Ralph Cohen, chefe do serviço de Glaucoma do Departamento de Oftalmologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo;
 - Ao Prof. Dr. Carmo Mandia Júnior assistente do serviço de Glaucoma do Departamento de Oftalmologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo;
 - Ao Prof. Dr. Geraldo Vicente de Almeida assistente do serviço de Glaucoma do Departamento de Oftalmologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo;
 - Ao Prof. Dr. Carlos Sousa Dias assistente do serviço de Estrabismo do Departamento de Oftalmologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo;
 - Ao Prof. Dr. José Ricardo Lima Rehder, chefe do Departamento de Oftalmologia da Faculdade de Medicina do ABC;
-

AGRADECIMENTOS

- Ao Dr. Maurício Della Paolera, assistente do serviço de Glaucoma do Departamento de Oftalmologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo;
 - Ao Dr. Niro Kasahara, assistente do serviço de Glaucoma do Departamento de Oftalmologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo;
 - Ao Dr. Renato Klingelfus Pinheiro, assistente do serviço de Glaucoma do Departamento de Oftalmologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo;
 - Ao Dr. Cristiano Caixeta Umbelino, assistente do serviço de Glaucoma do Departamento de Oftalmologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo;
 - A Regina Ferreira de Almeida, secretária da pós-graduação do Departamento de Oftalmologia da USP;
 - A Sandra Magaluci, estaticista responsável pela análise estatística da tese.
-

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas

Lista de figuras

Lista de tabelas

Resumo

Summary

1 – INTRODUÇÃO	01
2 – OBJETIVOS	20
3 – MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1. – Critérios para inclusão dos pacientes	24
3.2 – Critérios para exclusão dos pacientes	24
3.3 – Obtenção e preparação da membrana amniótica	25
3.4 – Técnica cirúrgica	26
3.5 – Período pós-operatório	28
3.6 – Complicações	29
3.7 – Métodos estatísticos	29
4 – RESULTADOS	31
5 – DISCUSSÃO	42
6 – CONCLUSÕES	52
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE ABREVIATURAS

%	por cento
+	mais
-	menos
±	mais ou menos
º	graus
5-FU	5-fluorouracil
AATB	The American Association of Tissue Banking
AGIS	Estudo da intervenção no glaucoma avançado
ANOVA	análise de variância
cc	centímetro cúbico
CGITS	Estudo multicêntrico do tratamento inicial do glaucoma
cm	centímetro
CNTGS	Collaborative Normal Tension Glaucoma Study
CONEP	Conselho Nacional de Saúde
dl	decilitro
DP	desvio padrão
EMGT	Early Manifest Glaucoma Trial
et al.	e colaboradores
EUA	Estados Unidos da América
FDA	United States Food and Drug Administration
max	máximo
mcg	micrograma
min	mínimo
mg	miligrama
ml	mililitro
mm	milímetro
MMC	mitomicina C
mmHg	milímetros de mercúrio
nº	número
n	tamanho da amostra
OHTS	Ocular Hypertension Treatment Study
p	probabilidade de erro
PIO	pressão intra-ocular
RNE	Ricardo Nunes Eliezer
TGF-β	Fator de Crescimento Transformador-beta

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Desenho esquemático da membrana amniótica suturada sobre o retalho escleral superficial nos 31 pacientes do grupo estudo. 28

Figura 2: Variação da PIO basal pré-operatória e pós-operatória durante 12 meses de seguimento, nos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle) entre agosto de 2001 a agosto de 2003. 39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Análise das idades dos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle), entre agosto de 2001 e agosto de 2003. 32

Tabela 2: Avaliação do sexo dos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle), entre agosto de 2001 e agosto de 2003. 33

Tabela 3: Análise da relação escavação / disco vertical encontrada nos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle), entre agosto de 2001 e agosto de 2003. 33

Tabela 4: Resultados da acuidade visual pré-operatória e pós-operatória após 1 ano, dos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle), entre agosto de 2001 a agosto de 2003. 34

Tabela 5: Resultados do número de medicações pré e pós-operatório encontrado nos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle) entre agosto de 2001 e agosto de 2003. 35

Tabela 6: Resultados dos valores da PIO pré e pós-operatórios dos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle), entre agosto de 2001 a agosto de 2003. 36

Tabela 7: Resultados da diferença percentual da PIO pós-operatória dos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle) entre agosto de 2001 e agosto de 2003. 38

Tabela 8: Resultados da aparência das bolhas dos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle), no seguimento de 1 ano, entre agosto de 2001 a agosto de 2003. 40

Tabela 9: Complicações observadas nos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle), entre agosto de 2001 a agosto de 2003. 41

RESUMO

Eliezer RN. Utilização da membrana amniótica na trabeculectomia para o tratamento do glaucoma primário de ângulo aberto [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006. 73p

INTRODUÇÃO: A trabeculectomia é a técnica de eleição para o tratamento cirúrgico do glaucoma. Entretanto, estudos recentes têm demonstrado perda da eficácia e menor redução da pressão intra-ocular dos pacientes submetidos à cirurgia ao longo dos anos. Esta diminuição decorre do contínuo processo de cicatrização e proliferação de fibroblastos na superfície epiescleral na região da bolha filtrante. Com o objetivo de diminuir esta proliferação fibroblástica e a conseqüente perda de função da trabeculectomia, introduziu-se o uso de antimetabólicos como o 5-fluorouracil e a mitomicina C. O uso dos antimetabólicos, no entanto, com freqüência é acompanhado dos indesejáveis efeitos da filtração excessiva e hipotonia. O uso da membrana amniótica em oftalmologia remonta aos anos de 1940, quando vários autores relataram seus efeitos benéficos no tratamento de doenças da superfície ocular. Além de promover a epitelização de superfícies, a membrana amniótica também é inibidora da fibrose. O efeito inibidor da fibrose pela membrana amniótica é altamente desejável na modulação da cicatrização após a trabeculectomia. O objetivo deste estudo é comparar a eficácia e a segurança do uso da membrana amniótica na trabeculectomia no tratamento cirúrgico do glaucoma primário de ângulo aberto. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foi realizado um estudo prospectivo aberto, aleatório, com grupos paralelos de tratamento. Sessenta e três pacientes com indicação de cirurgia para glaucoma foram selecionados e aleatoriamente divididos em 2

grupos. O primeiro grupo foi submetido a trabeculectomia com o uso peroperatório da membrana amniótica (grupo estudo) e o segundo grupo foi submetido a trabeculectomia sem o uso da membrana amniótica (grupo controle), na seção de glaucoma do Departamento de Oftalmologia da Santa Casa de São Paulo. Foram avaliados os efeitos redutores da pressão intra-ocular, número de medicações, aparência da bolha filtrante e complicações. Todos os pacientes foram acompanhados por 12 meses. RESULTADOS: A média das pressões pré-operatórias foi de $25,19 \pm 7,34$ mmHg no grupo da membrana amniótica e $25,42 \pm 7,71$ mmHg no grupo controle. A média das pressões pós-operatórias foi de $13,13 \pm 2,50$ mmHg no grupo da membrana amniótica e $15,47 \pm 2,92$ mmHg no grupo controle, diferença estatisticamente significativa no seguimento de 1 ano. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e estudo em relação ao número de medicações pré e pós-operatória. No final de 12 meses de seguimento, no grupo de estudo, dois entre 31 olhos (6,45%) apresentaram bolha plana e vascularizada, 14 olhos (45,16%) bolha elevada e pouco vascularizada e 15 olhos (48,38 %) bolha fina e avascular. No grupo controle sete entre 32 olhos (21,87%) apresentaram bolha plana vascularizada, 22 olhos (68,75%) bolha elevada e pouco vascularizada e três olhos (9,37%) bolha fina e avascular. Foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudo e controle quanto a distribuição dos tipos de bolha encontradas. As complicações observadas no grupo de estudo foram um olho com câmara anterior rasa (3,22%) e dois olhos que apresentaram bolha encapsulada (6,45%). No grupo controle, dois olhos apresentaram câmara anterior rasa (6,25%), um olho descolamento de coróide (3,12%) e dois olhos

com bolha encapsulada (6,25%). CONCLUSÃO: O presente estudo demonstrou que a trabeculectomia com membrana amniótica causou maior redução da pressão intra-ocular e aparência menos vascularizada das bolhas filtrantes. Mostrou-se uma técnica segura e com baixo índice de complicações.

Descritores: 1. Glaucoma de ângulo aberto, 2. Trabeculectomia, 3. Âmnio, 4. Fibrose / cirurgia

SUMMARY

Eliezer RN. The use of amniotic membrane in trabeculectomy for the treatment of primary open angle glaucoma [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2006. 73p

INTRODUCTION: Trabeculectomy is the procedure of choice for the surgical treatment of glaucoma until nowadays. However, recent studies have demonstrated a loss of efficacy and minor reduction of intraocular pressure in patients who underwent surgery over the years. This loss of efficacy of the trabeculectomy is related to the continuous process of healing and fibroblastic proliferation in the episcleral surface inside the filtering bleb. The use of 5-fluorouracil or mitomycin-C can improve the results of trabeculectomy, but they have been associated with an increased incidence of postoperative complications, especially in primary trabeculectomies. The use of amniotic membrane in ophthalmology retraces back to 1940, when some authors showed its beneficial effect in treatment of ocular surface disorders. Amniotic membrane can promote epithelization of ocular surface and act as an inhibitor of fibrosis. The purpose of this study was to compare the safety and efficacy of human preserved amniotic membrane in the trabeculectomy for treatment of primary open angle glaucoma. **METHODS:** The study was a prospective, randomized clinical trial comparing primary trabeculectomy with amniotic membrane (study group) and without amniotic membrane (control group) in the treatment of the glaucoma. Intraocular pressure (IOP), number of glaucoma medication, appearance of the bleb and complications were compared between the two groups. Sixty-three patients were divided in the study group of 31 patients and control group of 32

patients and were followed for a period of 12 months in the glaucoma section of Santa Casa de Sao Paulo. RESULTS: The mean pre-operative IOP was 25.19 ± 7.34 mmHg in the amniotic membrane group and 25.42 ± 7.71 mmHg in the control group. The difference of the mean postoperative IOP between groups was statistically significant; in the control group it was 15.47 ± 2.92 mmHg and in the study group 13.13 ± 2.50 mmHg at one year follow up. Postoperative number of medication decreased in both groups. Analysis shows at the end of 12-month follow-up period in the study group two of 31 eyes (6.45%) exhibited flat vascularized bleb, 14 eyes (45.16%) had elevated but not avascular blebs and 9 eyes (48.38%) showed thin, avascular blebs. In the control group seven of 32 eyes (21.87%) exhibited flat vascularized bleb, 22 eyes (68.75%) had elevated but not avascular blebs and three eyes (9.37%) showed a thin avascular bleb. Complications were: one eye (3.22%) presented with shallow anterior chamber after surgery and two eyes (6.45%) had encapsulated bleb in the study group; in the control group, two eyes (6.25%) presented shallow anterior chamber after surgery, one eye (3.12%) had coroidal detachment and two eyes (6.25%) developed encapsulated bleb. CONCLUSIONS: Trabeculectomy with amniotic membrane and standard trabeculectomy promote lower postoperative IOP and the results showed statistically significant difference between groups in postoperative IOP after one year follow-up. The procedure is safe with low rate of complications.

Descriptors: 1. Open-angle glaucoma, 2. Trabeculectomy, 3. Amnion,
4. Fibrosis / surgery

INTRODUÇÃO

O glaucoma primário de ângulo aberto, no passado, foi caracterizado como uma neuropatia óptica primária, crônica, na qual a pressão intra-ocular (PIO) era suficientemente elevada para causar dano à cabeça do nervo óptico e ao campo visual ⁽¹⁾.

Atualmente, tem sido definido como uma neuropatia óptica crônica progressiva, com perda da camada de fibras nervosas da retina e alterações típicas no disco óptico e no campo visual, desenvolvida em um portador de seio camacular aberto, na ausência de outras causas para essa doença e na qual a pressão intra-ocular é o principal fator de risco ⁽²⁾.

O glaucoma é hoje a segunda maior causa de perda visual irreversível em todo o mundo⁽³⁾. Quigley ⁽³⁾ estimou em 1996 que o número de pessoas com glaucoma primário de ângulo aberto seria de 66,8 milhões no ano 2000.

Segundo Thylefor e Negrel ⁽⁴⁾, em 1995, o glaucoma era a terceira causa mais importante de perda visual mundial após a catarata e o tracoma. No Brasil, o glaucoma é considerado a principal causa de cegueira irreversível ^(5,6).

O glaucoma primário de ângulo aberto representa aproximadamente 50% de todos os casos de glaucoma. Sua prevalência ajustada para faixa etária é pelo menos 11,4 vezes maior que o glaucoma de ângulo estreito na população de origem européia. Em indivíduos africanos e seus descendentes, o glaucoma primário de ângulo aberto é o responsável pela quase totalidade dos casos desta doença ^(3,4).

A lesão glaucomatosa do nervo óptico é um processo multifatorial. Entre os fatores relacionados com a doença, a PIO é o fator de risco mais importante e o único tratável. A diminuição da PIO, seja com medicação,

laser ou cirurgia, causa redução na taxa de progressão do dano glaucomatoso no nervo óptico ^(3,4).

Autores pioneiros, como Mackenzie ⁽⁷⁾ em 1830, von Graefe ⁽⁸⁾ em 1857 e Muller ⁽⁹⁾ em 1858, acreditavam que o aumento da PIO associava-se diretamente ao glaucoma. Uma das evidências clínicas era que pacientes com aumento secundário de PIO (glaucoma secundário) desenvolviam alterações de disco óptico e campo visual indistintas das observadas em glaucoma primário ^(10,11). Experimentalmente, é possível induzir um quadro de neuropatia glaucomatosa em primatas através do aumento crônico da PIO, realizando aplicações de laser no trabeculado córneo-escleral ou através de outros métodos ^(12,13,14).

Por outro lado, sabe-se que pacientes negros apresentam maior prevalência de glaucoma do que pacientes brancos ^(15,16,17). Dados obtidos no estudo populacional realizado em Baltimore, onde se avaliou uma população que incluía brancos e negros, mostraram que a PIO de brancos e negros sem ou com glaucoma é similar, apesar da prevalência de glaucoma ser mais que quatro vezes maior em negros, sugerindo maior suscetibilidade de indivíduos negros ao desenvolvimento de glaucoma, com mesmos níveis de PIO ^(16,18).

Outro dado interessante é que indivíduos da raça negra apresentam glaucoma de forma mais agressiva, que evolui para perda visual com maior frequência do que em indivíduos da raça branca ⁽¹⁹⁾.

Devido ao glaucoma ser uma doença crônica e assintomática, até um estágio avançado, a fidelidade e obediência ao tratamento medicamentoso com diversos medicamentos é geralmente difícil para muitos pacientes ⁽¹⁹⁾.

Segundo Grant e Burke ⁽¹⁹⁾, em estudo realizado em 1982, 57,5% dos indivíduos que não obedeceram ao tratamento glaucomatoso acabaram sem visão, porém o mesmo aconteceu com 42,5% daqueles que apresentaram absoluta fidelidade ao tratamento.

Hattennhauer et al. ⁽²⁰⁾ demonstraram que 54% dos pacientes tratados de glaucoma, no período de 1965 a 1985, evoluíram para cegueira em um dos olhos e 22% em ambos os olhos. Dos hipertensos oculares, 14% ficaram cegos de um olho e 4% de ambos os olhos. Dos pacientes com glaucoma primário de ângulo aberto, 26% ficaram cegos de um olho e 9% de ambos os olhos.

No estudo do tratamento da hipertensão ocular (OHTS), os pacientes com hipertensão ocular não tratada previamente, mas sem lesão, foram divididos em dois grupos. Um grupo estudo que recebeu tratamento com medicações hipotensoras oculares tópicas e um grupo controle que não recebeu medicação. O risco global de lesão após cinco a sete anos de seguimento foi reduzido de 9,5% no grupo controle para 4,4% no grupo com tratamento, documentando a eficácia da redução da PIO ⁽²¹⁾.

De acordo com estudo de Migdal em 1992 ⁽²²⁾, somente 40% dos pacientes com a medicação máxima tolerada se mantiveram estáveis após quatro anos de tratamento.

Assim sendo, alguns trabalhos tentaram identificar qual a melhor opção de tratamento inicial para o glaucoma. O estudo multicêntrico do tratamento inicial do glaucoma (CGITS) selecionou de modo aleatório aproximadamente 600 pacientes recém-diagnosticados com glaucoma de ângulo aberto, para tratamento com medicação no primeiro grupo ou cirurgia

fistulizante no segundo grupo. A PIO média entre os pacientes operados foi de 14-15 mmHg, contra 17-18 mmHg nos tratados clinicamente. Os dados de seguimento desses pacientes após cinco anos indicaram um impacto similar na qualidade de vida dos pacientes entre os dois grupos ⁽²³⁾.

O estudo da intervenção no glaucoma avançado (AGIS) avaliou a relação entre o controle da PIO e a deterioração do campo visual. Foi observado que na faixa de 12 a 21mmHg, existe relação dose resposta entre a PIO e a progressão dos danos ao campo visual e em níveis próximos de 12 mmHg, a progressão é leve ou nula. Contudo, a relação entre o risco e o benefício de intervenções mais agressivas deve levar em conta que 70% dos pacientes mantêm-se estáveis com PIO de até 15 mmHg ⁽²⁴⁾.

Portanto, a terapêutica do glaucoma deve ser estabelecida de acordo com a PIO alvo, baseada na gravidade da lesão do disco óptico, na alteração do campo visual, na PIO basal, na idade, na expectativa de vida e na presença de outros fatores de risco como raça e história familiar da doença.

Embora os mecanismos exatos pelo qual ocorre o aumento da PIO e a lesão do nervo óptico permaneçam desconhecidos, a cirurgia filtrante para reduzir a pressão intra-ocular continua sendo o tratamento de escolha após a falência do tratamento clínico ^(24,25).

A trabeculectomia foi introduzida por Cairns ⁽²⁶⁾ em 1967 e desde então passou a ser o procedimento mais utilizado para o tratamento cirúrgico do glaucoma. Ela reduz a pressão drenando o humor aquoso da câmara anterior através de uma fistula cirúrgica na junção córneo-escleral, para o espaço subconjuntival, formando uma bolha filtrante.

O índice de sucesso da trabeculectomia nos casos de glaucoma primário de ângulo aberto varia de 80 a 90%. O objetivo da cirurgia filtrante é reduzir e manter a PIO estável sem flutuações, nas 24 horas do dia, em um nível que prevenirá maior dano ao nervo óptico e ao campo visual ^(26,27).

Com a trabeculectomia sem utilização de drogas antimetabólicos 50% dos pacientes necessitam terapia suplementar dentro de dois anos ⁽²⁸⁾. Além disso, a PIO média, cinco anos após a cirurgia, costuma situar-se entre 16 e 21 mmHg e 35 a 38% dos pacientes com glaucoma e pressão nesses níveis sofrem progressão das alterações do campo visual em cinco anos. Em contraste, apenas 6 a 18% dos pacientes com PIO menor que 15 mmHg apresentam progressão da doença ⁽²⁸⁾.

Chen et al. ⁽²⁷⁾ sugerem que a probabilidade de sucesso da trabeculectomia diminui ao longo do tempo. Porém, esta probabilidade estabiliza-se em 67% ao redor de 10 anos, quando, neste período, 25% dos pacientes necessitam ser reoperados. O tempo médio para reiniciar o uso de medicações foi de 3,4 anos após a primeira trabeculectomia. A cirurgia diminuiu o número de medicações de 2,9 para 1,5.

O fracasso de uma trabeculectomia pode ser atribuído a uma série de fatores. A íris, o vítreo e o corpo ciliar podem obstruir a fístula ⁽²⁹⁾; a inflamação intensa, tanto no período pré como pós-operatório, contribui para o fechamento da bolha filtrante ^(29, 30,31) e a presença de sangue no espaço subconjuntival aumenta a possibilidade de falha na filtração ^(32,33). Porém, a maioria dos glaucomatólogos concorda que a causa mais comum do insucesso da trabeculectomia é a proliferação fibroblástica no espaço subconjuntival ^(34,35, 36,37).

Após a agressão cirúrgica, ocorre aumento da permeabilidade vascular, acumulando fibrinogênio, fibronectina e plaquetas no tecido lesado. Os fibroblastos, células predominantes do processo cicatricial, aparecem na primeira semana, originários dos tecidos adjacentes, como cápsula de Tenon e esclera. Eles secretam pró-colágeno, que se transformará em colágeno. A angiogênese segue os passos dos fibroblastos em direção à ferida, formando um tecido fibrovascular ^(34,35).

Ao realizar uma cirurgia filtrante, o cirurgião tem como objetivo principal impedir a excessiva cicatrização, que pode conduzir ao fracasso da cirurgia ^(34,35).

Numerosos autores, analisando diversos fatores que interferem no processo de cicatrização das cirurgias filtrantes, propuseram o uso de diferentes drogas e métodos específicos com a finalidade de melhorar os resultados cirúrgicos ^(34, 35, 38,39, 40).

Antes de 1984, as trabeculectomias eram feitas sem uso de agentes antimetabólicos quando, então, iniciou-se o uso de 5-fluorouracil (5-FU) com intuito de diminuir a cicatrização nas cirurgias filtrantes.

O 5-fluorouracil é um antimetabólico que atua na fase S do ciclo celular, bloqueando a divisão celular. Também é capaz de inibir a síntese de fibroblastos *in vitro* e *in vivo*, reduzindo a síntese de colágeno e a cicatrização ^(41,42). O 5-fluorouracil foi utilizado pela primeira vez para prevenir a vítreo-retinopatia proliferativa após vitrectomia devido à sua capacidade de inibir a proliferação fibroblástica ^(43,44). No glaucoma, essa droga pode ser injetada no espaço subconjuntival após a operação ou

aplicada sobre o retalho escleral superficial durante o procedimento cirúrgico da trabeculectomia ⁽³⁵⁾.

Nos primeiros casos, preconizava-se uma aplicação de 5 mg de 5-fluorouracil subconjuntival ao término da cirurgia, seguida de injeções subconjuntivais de 12 em 12 h na primeira semana e uma vez ao dia na segunda semana ⁽³⁵⁾. As desvantagens do 5-fluorouracil são a necessidade de múltiplas injeções, a toxicidade ao epitélio corneal que ocorre em 17 a 64% dos casos, a necessidade de, em alguns casos, interromper o tratamento e o vazamento da bolha que pode ocorrer de 5 a 37% dos casos ⁽³⁵⁾.

Outras complicações como ceratopatia ponteada, ceratite filamentar, ceratopatia cristalina infecciosa, placas ceratinizadas na córnea e ruptura da bolha filtrante podem ocorrer e estão associadas à toxicidade do 5-fluorouracil ⁽³⁵⁾.

Liebmann et al. ⁽⁴⁵⁾ demonstraram probabilidade cumulativa de sucesso em 2 anos de 100% na trabeculectomia com aplicação de injeções pós-operatórias de 5-fluorouracil versus 78% no grupo da trabeculectomia sem antimetabólicos.

Goldenfeld et al. ⁽⁴⁶⁾, em estudo prospectivo aleatório, mostraram que o uso de 5-fluorouracil pós-operatório resulta em melhor controle pressórico, com redução na necessidade de medicações anti-glaucomatosas, em comparação com a cirurgia sem antimetabólico. Nesse estudo, 84% dos pacientes no grupo 5-fluorouracil obtiveram PIO = 16mmHg, enquanto apenas 57% do grupo da trabeculectomia sem antimetabólicos conseguiram esse resultado.

As mitomicinas A e B foram inicialmente isoladas em 1956, do *Streptomyces caespitosus*, por Hata et al.⁽⁴⁷⁾, no Japão. Em 1958, Wakaki et al.⁽⁴⁸⁾ isolaram do mesmo microorganismo a mitomicina C. A introdução da mitomicina C na oftalmologia foi feita em 1963 por Mori et al.⁽⁵⁵⁾, que a utilizaram para evitar recidiva na cirurgia de pterígio.

Uma série de trabalhos experimentais demonstrou a capacidade da mitomicina C de melhorar os resultados das cirurgias filtrantes em olhos de animais^(49,50,51,52,53,54).

Em 1983, Chen⁽⁵⁶⁾ descreveu, pela primeira vez, o uso de mitomicina C durante a cirurgia filtrante em seres humanos.

Essa droga caracteriza-se por ser um agente alquilante que interrompe a replicação do DNA, inibindo a mitose celular⁽⁵⁶⁾. A mitomicina C é antimicrobiano e antineoplásico, isolado de um filtrado da fermentação do *Streptomyces caespitosus*^(58,59,60,61,62). Foi demonstrado seu poder inibidor sobre fibroblasto de animais e seres humanos na forma dose dependente. Ela tem ação em todas as fases do ciclo celular, sendo considerada 100 vezes mais potente que o 5-fluorouracil⁽³⁵⁾.

Numerosos estudos têm demonstrado aumento nos índices de controle da PIO pós-trabeculectomia com o uso da mitomicina C, em casos de glaucomas primários e secundários, além dos seus efeitos adversos nos tecidos oculares^(57,59).

Palmer⁽⁶²⁾, em 1991, relatou uma taxa de sucesso de 84% em 33 olhos operados de trabeculectomia com mitomicina C, porém mais de 50% dos pacientes tinham seguimento menor que 1 ano.

Kitazawa et al.⁽⁶³⁾ demonstraram que 88% dos casos operados de trabeculectomia com mitomicina C e 47% dos que usaram 5-fluorouracil obtiveram PIO = 20 mmHg sem uso de medicação hipotensora pós-operatória.

Skuta et al.⁽⁶⁴⁾ compararam a cirurgia de trabeculectomia com e sem mitomicina C e concluíram que 60% dos olhos submetidos a trabeculectomia com mitomicina C tinham PIO = 12 mmHg e que somente 21% dos olhos no grupo da trabeculectomia com 5-fluorouracil tinham PIO = 12 mmHg.

O uso de antimetabólicos como 5-fluorouracil e mitomicina C introduzidos no arsenal terapêutico do glaucoma aumentaram o índice de sucesso nas cirurgias filtrantes especialmente em glaucoma refratários, porém aumentaram as complicações pós-operatórias como: ceratite, descolamento de coróide, hipotonia prolongada, vazamento conjuntival e endoftalmite^(41,65).

As complicações mais citadas na literatura devido à mitomicina são: câmara anterior rasa, atalamia, descolamento de coróide, vazamento do humor aquoso através da incisão, hipotonia, bolha cística de paredes finas, maculopatia hipotônica, catarata, lesão epitelial da córnea, hifema e endoftalmite^(57, 58,59).

Norris et al.⁽⁶⁶⁾ demonstraram os resultados a longo prazo do uso de drogas antiproliferativas na trabeculectomia primária, concluindo que tanto o 5-fluorouracil quanto a mitomicina C proporcionaram valores mais baixos e estáveis da PIO, após seis anos de acompanhamento, em comparação com a trabeculectomia sem antimetabólicos.

Porém, segundo Bindlish et al.⁽⁶⁷⁾, num estudo retrospectivo de 123 olhos de 102 pacientes submetidos a trabeculectomia primária com mitomicina C, os riscos, como maior número de vazamento nas bolhas filtrantes, maior incidência de hipotonia e infecções superaram os benefícios do uso da mitomicina C nas trabeculectomias primárias.

Na tentativa de aumentar o tempo de funcionamento da trabeculectomia e diminuir os efeitos colaterais das drogas antiproliferativas, trabalhos recentes apresentam, como nova opção, o uso da membrana amniótica na cirurgia do glaucoma.

Trelford e Trelford-Sauder⁽⁶⁸⁾, após extensa revisão sobre membrana amniótica humana, fizeram referência ao passado, quando um recém-nascido com membrana fetal intacta era considerado uma criança privilegiada e com sorte. Com o maior conhecimento das propriedades de cicatrização da membrana amniótica confirmadas cientificamente, esse dito popular começou a ser considerado uma verdade clínica.

O uso da membrana amniótica teve origem no começo deste século, quando Davis, em 1910, utilizou-a como material cirúrgico no transplante de pele. Assim sendo, ela tem sido utilizada como enxerto nas queimaduras de pele, na reparação de onfalocele e na prevenção de aderência tecidual em cirurgias da cabeça, abdômen, pélvis, vagina e laringe^(69, 70, 71).

O uso da membrana amniótica na oftalmologia foi proposto pela primeira vez por De Roth⁽⁷²⁾ e Sorby⁽⁷³⁾, na década de 1940, para reparo dos defeitos conjuntivais e simbléfaro. Foi utilizada, originalmente, como substituto do peritônio de coelho no tratamento de queimadura química ocular, sem obter resultado promissor. Nesses pacientes, foram utilizadas

membranas fetais “vivas”, constituídas de âmnio e córion, para reconstrução da superfície subconjuntival.

Posteriormente, observou-se que, devido ao método de preparação e inclusão do córion, o resultado não era satisfatório, o que explica porque esse procedimento não foi utilizado por outros pesquisadores. Posteriormente foi observado que o córion possui atividade antigênica e a ausência de leucócitos no âmnio facilita a realização de transplantes, não havendo possibilidade de rejeição sendo por isso indicada apenas a utilização do âmnio ⁽⁷¹⁾.

Em 1995, Kim e Tseng ⁽⁷¹⁾ reintroduziram o uso de membrana amniótica na cirurgia oftalmológica num modelo experimental de queimadura em coelhos, com bons resultados na recuperação da superfície ocular. Esse fato pode ser explicado pelas características inatas da membrana amniótica, que possui uma membrana basal espessa e propriedades antiinflamatórias, antiapoptóticas e inibitórias da cicatrização, provavelmente relacionadas à presença e/ou inibição de fatores de crescimento, tais como TGF-beta 1 e 2, bFGF e HGF ^(71,74,75,76,77,78).

Estudos demonstraram que o uso da membrana amniótica possibilita a restauração de um meio ambiente estromal perilimbar sem inflamação, o qual propicia maior chance para o sucesso do transplante de limbo na deficiência de células tronco após doenças graves da superfície ocular ^(75,79).

Mais recentemente, o transplante da membrana amniótica foi reintroduzido na reconstrução da superfície ocular nos casos de doenças cicatriciais da córnea e conjuntiva, tais como queimadura, penfigóide cicatricial e eritema multiforme ^(74,75,76,80,81). A membrana amniótica exerce

papel importante na promoção da cicatrização nos defeitos epiteliais persistentes ⁽⁸²⁾, como enxerto após a remoção cirúrgica de pterígio e tumores ^(83,84), no tratamento de bolhas filtrantes com vazamento ⁽⁸⁵⁾ e na redução da opacidade corneal pós ceratectomia fototerapêutica ⁽⁸⁶⁾. Também pode ser utilizado como procedimento inicial antes do transplante de limbo nos casos de deficiência de células germinativas limbares ⁽⁷⁵⁾ e nas reconstruções palpebrais ⁽⁸⁴⁾.

Histologicamente, a membrana amniótica consiste de epitélio simples, membrana basal e camada de estroma avascular. O epitélio amniótico é composto por uma camada de células cubóides ou colunares baixas com núcleos centralizados, gotículas lipídicas citoplasmáticas e inúmeras microvilosidades projetadas da superfície apical. As células são firmemente aderidas à membrana basal subjacente por desmossomos e processos celulares ⁽⁶⁹⁾.

Vários estudos mostraram que a membrana basal promove crescimento e diferenciação epitelial, reforça a adesão das células epiteliais basais e previne a apoptose epitelial ^(69,87).

O lado estromal da membrana amniótica contém componentes raros da matriz celular, que suprimem o fator de crescimento transformador β , a proliferação e a diferenciação de miofibroblastos da córnea humana normal e dos fibroblastos limbares. Esse tecido também tem a capacidade de suprimir a expressão de citocinas inflamatórias do epitélio da superfície ocular, incluindo interleucina-1 α , interleucina-1 β , interleucina-2 interleucina-8, interferon- γ , fator- α necrose de tumor e fator de crescimento de fibroblastos b ^(69,87).

A membrana amniótica ajuda a reduzir a formação de tecido cicatricial durante a reconstrução da superfície conjuntival, a prevenir a recorrência de tecido cicatricial após remoção de pterígio e a reduzir a cicatrização indesejada após ceratectomia fototerapêutica e ceratectomia fotorefrativa com excimer laser ^(88,89). A matriz do estroma da membrana contém vários inibidores de protease, podendo também debelar as células inflamatórias levando-as para rápida apoptose.

Outros estudos demonstraram propriedades antimicrobianas da membrana amniótica e do líquido amniótico no processo de cicatrização ⁽⁶⁸⁻⁷¹⁾. O efeito antimicrobiano do âmnio e do córion tem sido demonstrados contra um grande número de bactérias, incluindo *Streptococcus hemolítico do grupo A*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* ^(69,90).

A utilização da membrana amniótica baseia-se na sua capacidade de beneficiar o processo de epitelização, por facilitar a adesão e a migração das células epiteliais basais, prevenir a apoptose e restaurar o fenótipo epitelial ⁽⁷¹⁾. Além disso, reduz os processos inflamatórios, angiogênico e cicatricial ⁽⁶⁸⁻⁷¹⁾. Por não expressar os antígenos de histocompatibilidade HLA-A, HLA-B ou HLA-DR, a membrana amniótica preservada é considerada imunologicamente inerte, o que a torna excelente opção para enxerto ^(68,69,74,91,92).

As indicações do uso da membrana amniótica na cirurgia oftalmológica são muitas. Na maioria dos casos a membrana amniótica é usada como substrato ou membrana basal adequada para facilitar o crescimento de novas células da córnea e/ou do epitélio conjuntival. Neste

caso, a membrana é utilizada como enxerto, a membrana basal (epitélio) para cima e a matriz estromal em aposição à córnea ou ao estroma epiescleral ^(69,91). Em outros casos, particularmente na presença de inflamação aguda, a membrana amniótica deve ser usada inicialmente para proteção contra os efeitos deletérios da inflamação. Nestes casos, a membrana amniótica deve ser usada como curativo biológico com membrana basal (epitélio) para baixo e matriz estromal voltada para a rima palpebral. Duas membranas, uma com epitélio para cima e a outra sobreposta a esta, com epitélio pra baixo, podem também ser utilizadas ⁽⁶⁸⁾.

As doenças cicatrizantes da superfície ocular constituem a maior indicação para transplante de membrana amniótica, devido à perda aguda ou crônica das células tronco ⁽⁹⁶⁾. Queimaduras químicas ou térmicas, síndrome de Stevens-Johnson e penfigóide cicatricial são importantes representantes deste grupo. O transplante da membrana amniótica é geralmente associado com alguma forma de transplante de células tronco, que pode ser feito simultaneamente ou posteriormente à colocação do transplante da membrana amniótica ⁽⁶⁸⁾.

Tsubota et al.⁽⁷⁴⁾ foram os primeiros a usar na clínica oftalmológica, com bons resultados, a membrana amniótica em casos de queimaduras químicas ou térmicas, síndrome de Stevens-Johnson e penfigóide cicatricial.

Shimazaki et al.⁽⁷⁶⁾ reportaram resultados semelhantes usando membrana amniótica preservada em 5 pacientes com queimadura química e 2 pacientes com queimadura térmica da superfície ocular.

Tseng et al.⁽⁷⁵⁾ usaram a membrana amniótica no tratamento de 31 olhos de 26 pacientes com parcial ou total deficiência de células tronco.

Concluíram que o transplante da membrana amniótica sozinho foi eficiente nos casos de deficiência parcial, porém nos casos de deficiência total a associação com transplante de limbo é necessária.

Gomes et al.⁽⁸¹⁾ apresentaram 11 olhos com ceratoconjuntivite cicatricial, com dor e diminuição da acuidade visual, que foram submetidos a reconstrução da superfície ocular com membrana amniótica e obtiveram importante melhora do aspecto do segmento anterior e da acuidade visual.

Rakowska et al.⁽⁹³⁾ usaram membrana amniótica em 18 olhos com defeito epitelial persistente, dos quais nove possuíam úlceras corneanas perfuradas. A resolução da lesão ocorreu prontamente em sete dos nove olhos perfurados.

A conjuntiva faz parte da superfície ocular e sofre as mesmas agressões que a córnea nas doenças cicatrizantes. A maioria dos procedimentos emprega a membrana amniótica na reconstrução da superfície ocular seguida de queimaduras ou doenças cicatriciais da córnea e conjuntiva. A membrana amniótica tem sido utilizada também na reconstrução da superfície ocular seguida da remoção de tumores e lesões conjuntivais, em associação com beta terapia e aplicação de mitomicina C^(68,74,75,76,94).

Meller et al.⁽⁹⁵⁾ usaram transplante de membrana amniótica para recobrir grandes áreas de defeito conjuntival após ressecção de conjuntivocálase, em 47 olhos de 41 pacientes.

Prabhasawat et al.⁽⁸³⁾ foram os primeiros a usar a membrana amniótica na cirurgia de pterígio e a recomendar seu uso no tratamento dos casos primários.

Ma et al.⁽⁹⁶⁾ compararam transplante de membrana amniótica, transplante conjuntival e mitomicina C tópica associado ao tratamento cirúrgico de pacientes com pterígio primário. Eles observaram a mesma taxa de recorrência do pterígio nos três grupos e sugeriram dar preferência à utilização do transplante de membrana amniótica pela segurança e redução dos efeitos colaterais.

Do mesmo modo, Shimazaki et al.⁽⁹⁷⁾ e Solomon et al.⁽⁹⁸⁾ obtiveram bons resultados com transplante de membrana amniótica em casos de pterígio recorrentes e pterígios recorrentes com simbléfaro.

O transplante da membrana amniótica também tem sido utilizado para casos sintomáticos de ceratopatia bolhosa. Pires et al.⁽⁹⁹⁾ examinaram 50 pacientes com dor intolerável por ceratopatia bolhosa, dos quais 90% apresentaram-se sem dor após a cirurgia na qual foi utilizada membrana amniótica.

Devido à fácil obtenção e documentada utilidade em oftalmologia, a membrana amniótica representa uma opção alternativa a ser mais bem estudada para o tratamento de afecções da superfície ocular e para ser usada em cirurgias de glaucoma.

Essa membrana tem sido utilizada na cirurgia filtrante como adjunto para reduzir a cicatrização, como retalho nas bolhas com vazamento e como recobrimento de esclera exposta nos implantes valvulares⁽⁶⁸⁾.

Fujishima et al.⁽¹⁰⁰⁾ realizaram trabeculectomias de base límbica com 0.4 mg/dl mitomicina C por 2 minutos em pacientes com glaucoma primário de ângulo aberto. Um fragmento de membrana amniótica foi colocado sob o retalho escleral superficial e suturado com nylon 10-0. Treze de quatorze

olhos que se submeteram a este procedimento atingiram PIO menor que 20 mmHg, incluindo três olhos que foram reoperados com a mesma técnica e 2 olhos que fizeram trabeculoplastia a laser.

Budenz et al.⁽¹⁰¹⁾, num estudo prospectivo aleatório, compararam a utilização do recobrimento conjuntival ou do transplante da membrana amniótica nos casos de vazamento tardio da bolha filtrante pós-trabeculectomia. Os autores concluíram que 46% das cirurgias no grupo da membrana amniótica falharam após um seguimento de 19 meses, contra um sucesso de 100% nas cirurgias de recobrimento conjuntival.

Gomes et al.⁽¹⁰²⁾ utilizaram membrana amniótica na resolução de complicações pós- trabeculectomia resistentes ao tratamento convencional: 3 casos de vazamento da bolha e 1 caso de bolha cística hiperfiltrante. Em todos os pacientes, obteve-se reconstituição anatômica da superfície da bolha filtrante, com manutenção dos valores da PIO com auxílio de medicação antiglaucomatosa.

Barton et al.⁽¹⁰³⁾ usaram a membrana amniótica nas cirurgias filtrantes para glaucoma em 24 coelhos albinos. A conjuntiva foi substituída em casos alternados por transplante de membrana amniótica no recobrimento do retalho escleral. Seis animais com transplante de membrana amniótica e seis casos controles foram sacrificados em 2 momentos pós-operatórios para a realização de exame histológico. O número de fibroblastos e seu crescimento foram estimados nas biópsias conjuntivais. A sobrevida, ou seja, o tempo de funcionamento da cirurgia filtrante foi maior no grupo da membrana amniótica ($22 \pm 3,8$ dias) que no grupo controle ($14 \pm 1,6$ dias).

Na análise da cultura o crescimento de fibroblastos foi menor no grupo da membrana amniótica do que no grupo controle.

Demir et al.⁽¹⁰⁴⁾ realizaram trabeculectomias em 30 coelhos divididos em 3 grupos. A mitomicina C foi aplicada sobre o retalho escleral superficial no primeiro grupo, a membrana amniótica foi transplantada sobre o retalho superficial no segundo grupo e o terceiro grupo atuou como controle. Foi calculada a média aritmética do número de fibroblastos e macrófagos por centímetro quadrado em cada grupo. A contagem de macrófagos e fibroblastos foi menor no grupo da mitomicina e o grupo da membrana amniótica teve contagem menor do que a do grupo controle.

Assim sendo, a membrana amniótica é uma opção na oftalmologia para diminuir a cicatrização e fibrose no segmento anterior, nas doenças da superfície ocular e como alternativa nos casos de cirurgia de glaucoma.

Na trabeculectomia, a membrana amniótica, poderia ser usada, devido às propriedades antiinflamatórias, no espaço subconjuntival proporcionando uma alternativa aos antimetabólicos, sem induzir efeitos colaterais indesejáveis.

OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi verificar a eficácia e a segurança do uso da membrana amniótica humana na trabeculectomia primária de pacientes com glaucoma primário de ângulo aberto.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados 63 pacientes da raça branca, portadores de glaucoma primário de ângulo aberto, da seção de Glaucoma da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, no período entre agosto de 2001 e agosto de 2003. Os pacientes tinham glaucoma não controlado com a medicação máxima tolerada, o que levou ao aumento da pressão intra-ocular, a progressão do defeito do campo visual e alteração na análise seriada do disco óptico.

Todos os pacientes tinham indicação de tratamento cirúrgico, sendo aleatoriamente alocados para um dos dois grupos do trabalho. O grupo de estudo, composto por 31 pacientes, foi submetido a trabeculectomia com membrana amniótica humana e o grupo controle, com 32 pacientes, a trabeculectomia sem membrana amniótica. Os procedimentos cirúrgicos e os exames pós-operatórios foram realizados sempre pelo mesmo oftalmologista (RNE), no ambulatório de glaucoma da Santa Casa de São Paulo. O período de seguimento foi de 12 meses para todos os pacientes.

O estudo foi classificado como prospectivo, aleatório, aberto, com dois grupos paralelos.

A visita basal (início do estudo) foi realizada no dia imediatamente anterior à cirurgia, quando os pacientes foram divididos e os seguintes exames foram realizados:

- a) anamnese incluindo história médica e ocular;
- b) medida da acuidade visual corrigida por meio da tabela de Snellen e posteriormente convertida para escala Logmar para fins estatísticos;
- c) tonometria de aplanção com tonômetro de Goldmann (entre 9:00 e 12:00 horas);

- d) biomicroscopia do segmento anterior;
- e) gonioscopia com lente de Goldmann de dois espelhos;
- f) oftalmoscopia com lente de 90 dioptrias.

As visitas subseqüentes foram realizadas 1, 7, 30, 60, 90, 120, 180, 240 e 360 dias após a intervenção cirúrgica. Exames em intervalos menores foram realizados a critério médico, quando necessário. Em todas as visitas subseqüentes foi medida acuidade visual com correção óptica, medida a PIO e realizadas biomicroscopia do segmento anterior e da bolha filtrante, gonioscopia e oftalmoscopia pelo mesmo examinador (RNE).

3.1 – Critérios para a inclusão dos pacientes

Os Critérios para a inclusão dos pacientes foram os seguintes:

- a) idade mínima de 40 anos;
- b) raça branca;
- c) ser portador de glaucoma primário de ângulo aberto (alterações do disco óptico e do campo visual típicas do glaucoma em pelo menos um dos olhos, PIO > 21mmHg e seio camerular aberto);
- d) paciente com indicação para trabeculectomia.

3.2 – Critérios para a exclusão dos pacientes

Os Critérios para a exclusão dos pacientes foram os seguintes:

- a) história de cirurgia ocular prévia e/ ou procedimento a laser;
- b) história de diabetes;

- c) tendência a formar quelóide;
- d) história de doença ocular, exceto glaucoma.

O estudo foi aprovado pelo comitê de ética da Santa Casa de São Paulo e da Universidade de São Paulo sob parecer número 1057/2000 e registro CONEP (Conselho Nacional de Saúde, Comissão Nacional de Ética em Pesquisa) número 1840. Todos os pacientes foram esclarecidos previamente sobre o propósito do estudo e assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

3.3 – Obtenção e preparação da membrana amniótica

A obtenção, preparação e preservação da membrana amniótica foi realizada de acordo com as normas do protocolo aprovado pela Comissão de Ética da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo. Essas normas foram baseadas no protocolo proposto por Tseng et al. ^(65,68), seguindo as premissas impostas pela "United States Food and Drug Administration (FDA)" e "The American Association of Tissue Banking (AATB)" ^(78,79).

A membrana amniótica foi obtida a partir de placentas provenientes de cesáreas eletivas de parturientes do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, após consentimento das gestantes e dos obstetras. Todas essas pacientes tinham exames sorológicos negativos para HIV-1, hepatite B (HBs Ag) e sífilis (VDRL), que foram reconfirmados pela realização de exame sorológico do sangue do cordão umbilical após o parto.

Após a obtenção da placenta no centro cirúrgico obstétrico, procedeu-se à sua lavagem com soro fisiológico em ambiente estéril. Manualmente, separou-se o âmnio do córion. O âmnio foi lavado três vezes com solução tampão fosfato, até que se retirasse todos os coágulos aderidos e depois lavados com solução antibiótica contendo 1000U / ml de penicilina, 20mcg / cc de estreptomicina e 2,5mcg / cc de anfotericina B, por 5 minutos. Após essa lavagem, o âmnio foi estendido sobre um filtro de nitrocelulose estéril (Millipore, Bedford, MA, EUA), com a face epitelial voltada para cima. A membrana aderida ao filtro foi cortada em fragmentos, que variavam de 2x2 cm a 4x4 cm, colocados em um recipiente estéril contendo glicerol (Baxter Healthcare Corporation, Stone Mountain, GA, EUA) e meio de preservação de córnea TC-199 modificado (Ophthalmos, São Paulo, SP, Brasil) na proporção de 1:1 e congelados a -80°C. Amostras de cada membrana obtida foram enviadas para estudo anatomopatológico e microbiológico (bacterioscopia e cultura) para controle de qualidade. O tempo máximo para utilização das membranas foi de três meses após a congelação.

3.4 – Técnica cirúrgica

A trabeculectomia foi executada de acordo com a seguinte técnica:

1. Anestesia peribulbar com 3,0 cc de xilocaína 2% (sem adrenalina) e 3,0 cc de marcaína 0,50% (sem adrenalina);
2. Sutura de tração na córnea com fio de seda 7.0;
3. Preparação do retalho conjuntival de base límbica com tesoura;
4. Hemostasia do leito escleral com cautério bipolar de campo úmido;

5. Demarcação e delaminação do retalho escleral superficial retangular de 3 x 4 mm de extensão e com 1/3 da espessura da esclera, usando lâmina de bisturi nº 11;
6. Paracentese corneal com agulha 30G;
7. Exérese de retalho escleral profundo de 2 x 2 mm de extensão, com bisturi lâmina nº 11 e tesoura de Vannas, seguida de iridectomia com a mesma tesoura;
8. Sutura do retalho escleral superficial com fio de mononylon 10.0 com 2 pontos;
9. Fixação da membrana amniótica (medindo 5x5 mm, dobrada e com face estromal nos dois lados) sobre o retalho escleral superficial, com dois pontos de mononylon 10.0, exceto nos pacientes do grupo controle (Figura 1).
10. Sutura contínua da conjuntiva e membrana de Tenon, com fio de mononylon 10.0;
11. Injeção de BSS na câmara anterior;
12. Injeção subconjuntival de 1,0 cc de gentamicina 80 mg e 1,0 cc de dexametasona 1% no fórnice inferior;
13. Instilação tópica de colírio de atropina 1%;
14. Curativo oclusivo.

Figura 1: Desenho esquemático da membrana amniótica suturada sobre o retalho escleral superficial nos 31 pacientes do grupo estudo.

3.5 – Período pós-operatório

No período pós-operatório, os pacientes usaram, no olho operado, colírio de tobramicina 0,3% a cada 6 horas por 7 dias, colírio de atropina 1% a cada 8 horas por 15 dias e colírio de prednisolona 1% a cada 4 horas por 15 dias, a cada 6 horas por 10 dias e a cada 12 horas por 7 dias. As medicações anti-glaucomatosas foram introduzidas durante o período pós-operatório dos pacientes, que não atingiram a PIO alvo, a critério do examinador.

A aparência da bolha filtrante foi classificada à lâmpada de fenda em uma das três categorias, tendo como parâmetro a conjuntiva adjacente em todas as visitas ⁽¹⁰⁵⁾:

1. plana e vascularizada;

2. elevada e pouco vascularizada;
3. elevada fina e avascular.

3.6 - Complicações

As complicações avaliadas foram:

1. bolha encapsulada;
2. bolha com infecção;
3. vazamento na incisão (sinal de Seidel positivo);
4. câmara anterior rasa (critério de Spaeth);
5. hipotonia (PIO = 05mmHg);
6. descolamento de coróide;
7. endoftalmite;
8. maculopatia hipotônica.

3.7 – Métodos estatísticos

As variáveis quantitativas idade, relação E/D (escavação/disco), acuidade visual, número de medicações e pressão intra-ocular foram representadas por média, desvio padrão (DP) e valores mínimo e máximo. As variáveis qualitativas sexo e olhos foram representados pela frequência absoluta e relativa.

O test t de Student foi utilizado para comparar os grupos controle e estudo quanto à pressão intra-ocular.

A prova não-paramétrica de Mann-Whitney foi realizada para comparar os grupos controle e estudo quanto a acuidade visual, ao número de medicações e a variação percentual da pressão intra-ocular em relação ao valor basal.

A prova não paramétrica de Wilcoxon foi realizada para comparar a acuidade visual dentro de cada grupo, comparando a visita pré-operatória com a pós-operatória e para comparar o número de medicações pré-operatória com pós-operatória dentro de cada grupo.

A comparação entre as visitas foi feita pela técnica da Análise de Variância (ANOVA).

Adotou-se o nível de significância de 0,05 ($\alpha = 5\%$) e níveis descritivos (p) inferiores a esse valor foram considerados significantes e representados por *.

RESULTADOS

Os dados demográficos dos 63 pacientes submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) ou sem membrana amniótica (grupo controle), estão apresentados nas tabelas 1 e 2 e a relação escavação/disco na tabela 3.

Tabela 1: Análise das idades dos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle), entre agosto de 2001 e agosto de 2003.

Grupo	Idade						p
	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	n	
Controle	67,5	± 7,9	69	50	81	32	0,408
Estudo	69,3	± 9,1	70	53	88	31	

DP = desvio padrão, n = número de pacientes, idade = anos

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e estudo em relação a idade (p= 0,408).

Tabela 2: Avaliação do sexo dos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle), entre agosto de 2001 e agosto de 2003.

Sexo	Controle n(%)	Estudo n(%)	p
Feminino	18 (56,3)	19 (61,3)	0,440
Masculino	14 (43,8)	12 (38,7)	
Total	32 (100,0)	31 (100,0)	

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e estudo em relação ao sexo ($p= 0,440$).

Tabela 3: Análise da relação escavação / disco vertical encontrada nos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle), entre agosto de 2001 e agosto de 2003.

	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	n	p
Controle	0,89	$\pm 0,13$	0,90	0,60	1,00	32	0,508
Estudo	0,87	$\pm 0,12$	0,90	0,50	1,00	31	

DP = desvio padrão, n = número de pacientes

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e estudo em relação a E/D ($p= 0,508$).

Em relação aos olhos operados no grupo controle, 19 (59,4%) eram olhos direitos e 13 (40,6%) esquerdos. No grupo estudo, 17 (54,8%) eram olhos direitos e 14 (45,2%) esquerdos e não foi encontrada diferença

estatisticamente significativa entre os dois grupos quanto a esse aspecto ($p=0,457$).

A tabela 4 mostra a acuidade visual pré e pós-operatória encontrada nos 63 pacientes submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle).

Tabela 4: Resultados da acuidade visual pré-operatória e pós-operatória após 1 ano, dos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle), entre agosto de 2001 a agosto de 2003.

Acuidade Visual							
Pré-operatória	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	n	p
Grupo Controle	1,20	± 1,32	0,46	0,00	3,00	32	0,194
Grupo Estudo	0,50	± 0,62	0,30	0,00	3,00	31	
Pós-operatória							
Grupo Controle	1,26	± 1,27	0,70	0,00	3,00	32	0,103
Grupo Estudo	0,60	± 0,77	0,40	0,00	3,00	31	

DP = desvio padrão, n = número de pacientes

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e estudo em relação a acuidade visual pré-operatória ($p=0,194$) e pós-operatório ($p=0,103$).

Tanto no grupo controle quanto no grupo estudo foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre acuidade visual pré e pós-operatória de 1 ano (respectivamente $p=0,002$ e $p=0,036$).

A tabela 5 mostra o número de medicações pré e pós-operatório encontrado nos 63 pacientes submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle).

Tabela 5: Resultados do número de medicações pré e pós-operatório encontrado nos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle) entre agosto de 2001 e agosto de 2003.

Número de medicações	Pré-operatório		Pós-operatório	
	Controle n (%)	Estudo n (%)	Controle n (%)	Estudo n (%)
0	2 (6,3)	0	21 (65,6)	25 (80,6)
1	17 (53,1)	19 (61,3)	7 (21,9)	4 (12,9)
2	10 (31,3)	8 (25,8)	4 (12,5)	2 (6,5)
3	3 (9,4)	4 (12,9)	0	0
Total	32 (100,0)	31 (100,0)	32 (100,0)	31 (100,0)

Não foi encontrada diferença estatisticamente significante entre os grupos controle e estudo em relação ao número de medicações pré ($p=0,786$) e pós-operatório ($p=0,521$).

Foi encontrada diferença estatisticamente significante em relação ao número de medicações na comparação pré e pós-operatória entre o grupo controle ($p<0,001$) e o grupo estudo ($p<0,001$).

A tabela 6 mostra os valores da PIO pré e pós-operatórios dos 63 pacientes submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle), durante o período de 1 ano de seguimento.

Tabela 6: Resultados dos valores da PIO pré e pós-operatórios dos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle), entre agosto de 2001 a agosto de 2003.

Pressão intra-ocular							
Pré-operatória	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	n	p
Grupo Controle	25,19	± 7,34	24	18	48	32	0,903
Grupo Estudo	25,42	± 7,71	24	14	45	31	
1° PO							
Grupo Controle	9,28	± 5,68	8	1	23	32	0,902
Grupo Estudo	7,06	± 4,52	6	0	18	31	
7° PO							
Grupo Controle	9,50	± 4,57	10	0	20	32	0,963
Grupo Estudo	9,45	± 3,65	8	4	20	31	
30° PO							
Grupo Controle	13,66	± 6,97	11	6	34	32	0,887
Grupo Estudo	13,90	± 5,52	14	6	34	31	
60° PO							
Grupo Controle	15,31	± 4,07	14	10	24	32	0,140
Grupo Estudo	13,81	± 3,92	14	8	22	31	
120° PO							
Grupo Controle	15,19	± 3,60	15	5	22	32	0,048*
Grupo Estudo	13,39	± 3,78	14	8	28	31	
150° PO							
Grupo Controle	15,30	± 3,77	14,50	5	26	32	0,025*
Grupo Estudo	13,27	± 3,20	14	8	22	31	
180° PO							
Grupo Controle	15,19	± 3,40	16	4	22	32	0,021*
Grupo Estudo	13,26	± 3,04	14	8	23	31	
360° PO							
Grupo Controle	15,47	± 2,92	16	8	20	32	0,001*
Grupo Estudo	13,13	± 2,50	14	8	16	31	

DP = desvio padrão, n = número de pacientes

Foi encontrada diferença estatisticamente significativa em relação a PIO, na comparação entre os grupos controle e estudo, nas seguintes visitas: 90 dias ($p = 0,043^*$), 120 dias ($p = 0,048^*$), 150 dias ($p = 0,025^*$), 180 dias ($p = 0,021^*$) e 360 dias ($p=0,001^*$).

A tabela 7 mostra a diferença percentual da PIO pós-operatória encontrada nos 63 pacientes submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle).

Foi encontrada diferença estatisticamente significativa em relação à diferença percentual da PIO em relação ao valor pré-operatório, na comparação entre os grupos controle e estudo na visita 360 dias ($p = 0,043^*$).

A figura 2 demonstra a variação da PIO basal pré-operatória e pós-operatória durante 12 meses de seguimento, nos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle).

Tabela 7: Resultados da diferença percentual da PIO pós-operatória dos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle) entre agosto de 2001 e agosto de 2003.

Diferença Percentual da Pressão intra-ocular							
Pré-operatória	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	n	p
Grupo Controle	-61,05	± 24,29	-68,21	-96,88	-11,11	32	0,117
Grupo Estudo	-69,83	± 21,03	-71,43	-100,00	-14,29	31	
1° PO							
Grupo Controle	-60,91	± 19,85	-61,72	-100,00	0,00	32	0,858
Grupo Estudo	-59,30	± 19,99	-63,64	-85,71	-4,76	31	
7° PO							
Grupo Controle	-44,81	± 25,19	-50,00	-77,27	30,00	32	0,382
Grupo Estudo	-39,99	± 32,72	-41,67	-82,22	88,89	31	
30° PO							
Grupo Controle	-36,09	± 20,48	-37,41	-72,73	20,00	32	0,208
Grupo Estudo	-41,72	± 22,64	-41,67	-75,76	22,22	31	
60° PO							
Grupo Controle	-36,49	±17,68	-39,23	-68,18	0,00	32	0,211
Grupo Estudo	-42,16	± 20,66	-44,00	-78,79	14,29	31	
120° PO							
Grupo Controle	-36,37	± 20,15	-39,44	-77,27	5,56	32	0,148
Grupo Estudo	-43,87	± 19,33	-46,43	-75,76	14,29	31	
150° PO							
Grupo Controle	-36,07	± 20,19	-37,75	-79,55	22,22	32	0,088
Grupo Estudo	-44,40	± 17,43	-45,00	-75,76	0,00	31	
180° PO							
Grupo Controle	-36,02	± 21,16	-38,46	-81,82	22,22	32	0,198
Grupo Estudo	-44,39	± 16,82	-42,31	-75,76	-14,29	31	
360° PO							
Grupo Controle	-35,54	± 16,53	-33,33	-65,52	11,11	32	0,043*
Grupo Estudo	-45,05	± 15,57	-50,00	-73,33	-14,29	31	

DP = desvio padrão, n = número de pacientes

Diferença percentual = $\frac{\text{média pré} - \text{média pós}}{\text{média pré}}$

Figura 2: Variação da PIO basal pré-operatória e pós-operatória durante 12 meses de seguimento, nos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle) entre agosto de 2001 a agosto de 2003.

A análise estatística da figura 2 mostra variação estatisticamente significativa entre os valores de pressão intra-ocular, do pré-operatório para o primeiro dia pós-operatório e do sétimo dia pós-operatório para o trigésimo dia pós-operatório nos grupos controle e estudo. A variação da pressão intra-ocular entre o primeiro e o sétimo dia e entre o trigésimo e os demais dias de seguimento não sofreram variação estatisticamente significativa nos dois grupos.

A tabela 8 demonstra a aparência das bolhas dos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle).

Tabela 8: Resultados da aparência das bolhas dos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle), no seguimento de 1 ano, entre agosto de 2001 a agosto de 2003.

Aparência da bolha	Grupo Controle	Grupo Estudo	p
	n (%)	n (%)	
Plana e vascularizada	7 (21,87)	2 (6,45)	0,002*
Elevada e pouco vascularizada	22 (68,75)	14 (45,16)	
Fina e avascular	3 (9,37)	15 (48,38)	
Total	32 (100,0)	31 (100,0)	

Foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudo e controle quanto à distribuição de todos os tipos de bolhas encontradas ($p = 0,002$).

A tabela 9 apresenta as complicações observadas nos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle).

Tabela 9: Complicações observadas nos 63 pacientes da Santa Casa de São Paulo submetidos a trabeculectomia com membrana amniótica (grupo estudo) e sem membrana amniótica (grupo controle), entre agosto de 2001 a agosto de 2003.

Complicações	Grupo Controle	Grupo Estudo
	n (%)	n (%)
Câmara rasa	2 (6,25)	1 (3,22)
Bolha encapsulada	2 (6,25)	2 (6,45)
Descolamento de coróide	1 (3,12)	0
Total	32 (100,0)	31 (100,0)

As complicações observadas no grupo de estudo foram olhos com câmara anterior rasa, que tiveram resolução espontânea na primeira semana e olhos com bolha encapsulada, que melhoraram na terceira semana pós-operatória com medicação hipotensora ocular.

No grupo controle, os olhos com câmara anterior rasa e descolamento de coróide tiveram resolução espontânea na primeira semana e os olhos com bolha encapsulada melhoraram com medicação hipotensora ocular na quarta semana pós-operatória.

DISCUSSÃO

O resultado de uma cirurgia filtrante depende da inibição das respostas inflamatória e cicatricial fisiológicas da episclera, da cápsula de Tenon e do limbo corneano, permitindo a manutenção e permeabilidade da fístula ⁽¹⁰⁶⁾. O equilíbrio entre a inibição e a ocorrência da cicatrização é que vai propiciar o sucesso dessa cirurgia ⁽³⁴⁾.

Uma pesquisa das Sociedades Americana e Japonesa de Oftalmologia demonstrou que a maioria dos seus membros usa mitomicina C ou 5-fluorouracil nas trabeculectomias primárias. Entretanto, apesar disso, sabe-se que os antimetabólicos aumentam muito o risco de complicações pós-operatórias ⁽¹⁰⁷⁾.

A utilização da membrana amniótica em cirurgias filtrantes visa diminuir a fibrose no espaço subconjuntival e reduzir a angiogênese. O local em que foi posicionada a membrana amniótica na trabeculectomia se baseou nas suas propriedades antiinflamatórias, que agiriam diminuindo a vascularização e a fibrose no espaço subconjuntival, local onde mais freqüentemente ocorre a cicatrização ⁽²⁹⁾.

As propriedades da membrana amniótica parecem estar ligadas à presença e inibição de fatores de transformação e crescimento. A face estromal da membrana amniótica contém componentes que inibem o fator de transformação e crescimento beta, além de participar do processo de proliferação e diferenciação dos fibroblastos no estroma. Os fatores de transformação e crescimento beta (TGF- β) atuam, normalmente, sobre receptores específicos localizados na membrana citoplasmática dos fibroblastos, estimulando a síntese de colágeno ^(71,74,75,76,77,78).

Trabalhando com coelhos Barton et al.⁽¹⁰³⁾ utilizaram membrana amniótica em cirurgias para glaucoma e compararam este grupo com um grupo controle. No grupo estudo a conjuntiva foi substituída por transplante de membrana amniótica no recobrimento do retalho escleral para formação da bolha filtrante. A membrana amniótica foi posicionada com o objetivo de inibir a inflamação, vascularização e cicatrização nesse local. Nesse estudo, os autores avaliaram a pressão intra-ocular em 3 intervalos: do 3º ao 9º dia, do 11º ao 16º dia e do 17º ao 38º dia. A diferença entre os grupos foi estatisticamente significativa entre o 11º e o 16º dia, com maior redução de pressão no grupo da membrana amniótica e maior sobrevida na curva de sobrevivência de Kaplan-Meier.

Demir et al.⁽¹⁰⁴⁾, realizaram trabeculectomias em 30 coelhos, utilizando MMC e membrana amniótica. Este estudo mostrou que a mitomicina C é muito mais potente que a membrana amniótica, pois é uma droga antineoplásica que age diretamente inibindo a divisão celular. Porém, a membrana amniótica inibiu mais o crescimento de fibroblastos e macrófagos que no grupo controle, confirmando sua característica de diminuir a cicatrização fato, também, observado no nosso estudo.

O primeiro trabalho de trabeculectomia com membrana amniótica em humanos foi publicado por Fujishima et al.⁽¹⁰⁰⁾. Esses autores realizaram trabeculectomias de base límbica com 0,4 mg/dl mitomicina C por 2 minutos associado ao uso da membrana amniótica posicionada abaixo do retalho escleral e com a face estromal voltada para baixo. Treze pacientes dos 14 pacientes com glaucoma refratário operados atingiram sucesso pós-cirúrgico com PIO = 20mmHg e bolha filtrante formada.

No nosso trabalho, de um modo pioneiro, a face estromal da membrana amniótica ficou em contato, simultaneamente, com a superfície interna da conjuntiva e o tecido epiescleral, pois a membrana amniótica foi dobrada de tal modo que as duas faces do estroma ficaram viradas para fora. O objetivo desta técnica foi aumentar a área de contato com a membrana amniótica, para maior ação das substâncias antiinflamatórias e inibidoras da fibrose, com o intuito de prevenir a cicatrização do espaço subconjuntival e promover maior tempo de funcionamento das bolhas filtrantes.

A trabeculectomia com uso de antimetabólicos (5-FU ou MMC) seguramente reduz os valores da pressão intra-ocular, porém causa aumento no número e na gravidade das complicações, como atalamia, maculopatia hipotônica e endoftalmite.^(67,108) A utilização da membrana amniótica visa não somente melhorar a filtração como, também, diminuir as complicações dessa cirurgia.

Neste trabalho, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e estudo em relação à idade ($p= 0,408$) e ao sexo ($p= 0,440$), demonstrando que as amostras estudadas foram homogêneas. Estudos retrospectivos indicam que as cirurgias filtrantes têm maior probabilidade de serem bem sucedidas em pacientes mais idosos,^(109,110,111) devido a diminuição da cicatrização. Neste trabalho os pacientes tinham idade com mediana de 69 anos no grupo estudo e 70 anos no grupo controle.

Todos os pacientes eram da raça branca, pois o nosso objetivo foi selecionar uma amostra a mais homogênea possível devido a grande miscigenação racial que existe no nosso país.

Na avaliação da relação escavação disco (E/D) foi utilizada a medida vertical, por esta sofrer alteração precoce no paciente glaucomatoso e caracteriza melhor o defeito do nervo óptico que a relação escavação disco horizontal. A relação escavação disco vertical não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e estudo ($p= 0,508$). Nossos pacientes possuíam escavação média grande, entre 0,8 e 0,9, tanto no grupo controle como no grupo de estudo sendo, portanto, considerados casos avançados de glaucoma.

Em relação a acuidade visual, tanto no grupo controle como no grupo estudo, foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre acuidade visual pré-operatória e acuidade visual pós-operatória, respectivamente, $p= 0,002$ e $p= 0,036$.

Nos nossos casos, a acuidade visual diminuiu com a cirurgia da trabeculectomia nos dois grupos como no estudo de Pimentel et al. ⁽¹¹²⁾ e no estudo de Cheung et al. ⁽¹¹⁶⁾ que utilizaram MMC. A principal causa da diminuição da acuidade visual tanto no nosso trabalho como na literatura foi a progressão da catarata que ocorre no período pós-operatório.

Como era de se esperar o número de medicações sofreu redução estatisticamente significativa na comparação pré-operatória e pós-operatória no grupo controle ($p< 0,001$) e no grupo estudo ($p< 0,001$). Na tabela 5, observa-se que, no período pré-operatório, 19 pacientes do grupo de estudo

e 17 do grupo controle utilizavam uma medicação e no pós-operatório este número diminuiu para 4 pacientes no grupo de estudo e 7 no grupo controle.

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa em relação a comparação entre os grupos controle e estudo no número de medicações pré-operatória ($p= 0,786$) e pós-operatória ($p= 0,521$). No entanto, observando a tabela 6, o número de pacientes sem medicação pós-operatória aos 12 meses de seguimento foi de 25 (80,6%) no grupo estudo comparado com 21 (65,6%) no grupo controle, com uma medicação foi de 4 (12,9%) no grupo estudo, comparado com 7 (21,9%) no grupo controle e com duas medicações foi de 2 (6,5%) no grupo estudo comparado com 4 (12,5%) no grupo controle.

Essa diferença é importante clinicamente no tratamento e no seguimento dos pacientes.

A redução do número de medicações melhora a fidelidade ao tratamento, pois diminui o número de instilações diárias e diminui o número de efeitos colaterais dos colírios, além de ser economicamente mais acessível, melhorando a qualidade de vida dos pacientes ^(22,23,30,32).

Nossos resultados mostram diferença estatisticamente significativa da PIO nos pós-operatórios de 3, 4, 5, 6 e 12 meses entre o grupo estudo e o grupo controle. A maior redução da PIO ocorreu nos pacientes do grupo que utilizou a membrana amniótica.

A diferença nas médias da pressão intra-ocular entre os dois grupos mostrou-se estatisticamente significativa, porém, com variações pequenas. Embora, em alguns momentos, exista somente uma diferença de 1,5 mmHg na pressão intra-ocular vários estudos multicêntricos ^(21,117,118,119) têm

demonstrado que, para pacientes em estágio avançado do glaucoma, quanto maior for a redução da pressão intra-ocular menor será o dano do nervo óptico.

Os estudos multicêntricos mais recentes como o Early Manifest Glaucoma Trial ⁽¹¹³⁾ (EMGT) e o Collaborative Normal Tension Glaucoma Study ⁽¹¹⁴⁾ (CNTGS) reafirmaram que a redução da pressão intra-ocular diminui a progressão da neuropatia glaucomatosa. O EMGT forneceu uma estimativa da importância da redução da pressão intra-ocular concluindo que existe uma redução de 10% na taxa de progressão da doença para cada 1 mmHg de redução da pressão intra-ocular ⁽¹¹⁵⁾. De forma semelhante, o Ocular Hypertensive Treatment Study ⁽²¹⁾ (OHTS) demonstrou que a redução da pressão intra-ocular também diminui a incidência de glaucoma em hipertensos oculares.

No grupo estudo a PIO pré-operatória de $25,4 \pm 7,7$ mmHg diminuiu para $7,1 \pm 4,5$ mmHg no primeiro dia pós-operatório, subiu para $13,9 \pm 5,5$ mmHg no primeiro mês e atingiu $13,3 \pm 3,0$ mmHg no pós-operatório de 1 ano.

Cheung et al. ⁽¹¹⁶⁾ estudando o uso da mitomicina C na trabeculectomia obteve redução da PIO pré-operatória de $29,4 \pm 10,3$ mmHg para $11,5 \pm 8,2$ mmHg no primeiro dia pós-operatório, a qual subiu para $12,3 \pm 7,3$ mmHg no primeiro mês de seguimento e atingiu $12,3 \pm 7,6$ mmHg após 1 ano da cirurgia. Apesar de metodologicamente diferentes o nosso estudo e o trabalho de Cheung et al. ⁽¹¹⁶⁾ observam uma redução da PIO semelhante no decorrer do primeiro ano de seguimento.

Os critérios para classificar a aparência das bolhas são muito discutíveis, por serem subjetivos. Geralmente a análise da aparência da bolha é feita pelo examinador à lâmpada de fenda comparando o aspecto da conjuntiva, a vascularização, a transparência e a presença ou não de microcistos. A nossa análise foi baseada na classificação proposta por Susanna et al.⁽¹⁰⁵⁾ que avaliaram o aspecto da bolha após cirurgia de trabeculectomia com mitomicina C, na qual essa droga entrava ou não em contato com a conjuntiva e a cápsula de Tenon.

A aparência das bolhas elevadas e pouco vascularizadas no grupo da membrana amniótica foi mudando com o passar das semanas, adquirindo um aspecto menos vascularizado, chegando em alguns casos à aparência avascular, como nos casos onde se utilizava a mitomicina C.

Os olhos dos pacientes submetidos à trabeculectomia com mitomicina C costumam apresentar bolhas avasculares, elevadas e de paredes finas^(112,116). Nestes casos, devido a essas características, há maior probabilidade de ocorrer vazamento de humor aquoso pela incisão e, conseqüentemente, atalamia, descolamento de coróide e endoftalmite^(52,56,64,66)

Os fatores antiinflamatórios e inibidores da angiogênese encontrados no estroma da membrana basal da membrana amniótica talvez sejam os principais responsáveis pela formação de bolhas menos vascularizadas e que induzem menor vazamento e/ou endoftalmite.

Acredita-se que quanto menos vascularizada for a bolha menor é a incidência de fibrose, pois os fatores de cicatrização são levados ao local da ferida cirúrgica através dos vasos sanguíneos.

No nosso grupo de estudo, foram observadas somente 2 (6,5%) bolhas planas vascularizadas e 15 (48,4%) bolhas finas avasculares ($p=0,002$). No grupo controle foram observadas 7 (21,9%) bolhas planas vascularizadas e 3 (9,4%) bolhas finas avasculares ($p=0,002$). A maior incidência de bolhas avasculares no grupo estudo talvez explique a maior redução da pressão intra-ocular desses pacientes.

Apesar de metodologicamente diferente, Susanna et al.⁽¹⁰⁵⁾, realizando trabeculectomia com mitomicina C obtiveram, no seguimento de 1 ano, 80% de bolhas finas avasculares e 6,7% de bolhas planas e vascularizadas, enquanto que no nosso estudo obtivemos 48,4% de bolhas finas avasculares e 6,45% planas e vascularizadas no mesmo período.

As complicações cirúrgicas no trabalho de Fujishima et al.⁽¹⁰⁰⁾, que utilizaram a associação da MMC com a membrana amniótica foram muito mais graves e numa frequência maior que no nosso estudo. Esses autores tiveram 1 caso (7,1%) de descolamento de retina, 4 (28,5%) casos de falência do transplante de córnea e 1 caso (7,1%) que evoluiu para amaurose. Por outro lado, esta diferença também pode ser explicada pelo tipo de amostra utilizada a qual no nosso trabalho foi homogênea, com pacientes com glaucoma primário de ângulo aberto, e ,no estudo do Fujishima et al.⁽¹⁰⁰⁾ incluía pacientes com glaucomas refratários por diferentes causas: ceratite bolhosa, pós-transplante de córnea, queimadura ocular e glaucoma de ângulo fechado constituindo, portanto um grupo muito heterogêneo.

A ocorrência de câmara anterior rasa foi de 57,1% no trabalho de Fujishima et al.⁽¹⁰⁰⁾ demonstrando um número muito superior quando

comparado com o nosso estudo onde foi de 3,2% no grupo da membrana amniótica e 6,2% no grupo controle.

CONCLUSÕES

- A trabeculectomia com membrana amniótica causou maior redução da pressão intra-ocular em comparação com a trabeculectomia simples após 12 meses de seguimento;
- O número de medicações hipotensoras diminuiu no grupo da trabeculectomia com membrana amniótica em comparação com a trabeculectomia simples, porém essa diferença não se mostrou estatisticamente significativa apesar de ser clinicamente importante;
- A trabeculectomia com membrana amniótica levou ao desenvolvimento de um maior número de bolhas avasculares que a trabeculectomia simples.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hart WM. The epidemiology of primary open-angle glaucoma and ocular hypertension. In: Ritch R, Shields MB, Krupin T. The glaucomas. St Louis, C.v. Mosby, 1989. p.789-96.
2. Stamper RL, Lieberman MF, Drake MV. In: Diagnosis and therapy of the glaucomas. Mosby, 1999, p.2-9.
3. Quigley HA. Number of people with glaucoma worldwide. Br J Ophthalmol. 1996;80:389-93.
4. Thylefors B, Négrel AD. The global impact of glaucoma. Bull World Health. Org. 1994; 72:323-6.
5. Lima AL, Ribeiro MB, Belfort Jr R, Ottaiano JÁ, Nobrega MJ, Lewinski R. Prevalência de diferentes patologias e causas de cegueira em pacientes atendidos em serviço universitário de São Paulo. Arq Bras Oftalmol. 1982;45:193-197.
6. Freitas JAH, Silva HMB, Bertotti GSA, Costa JR. Incidência de cegueira no primeiro atendimento ambulatorial do Hospital Universitário PUCCAMP. Rev Bras Oftalmol. 1997;56:119-125.
7. Mackenzie W. Glaucoma. In: R. Longman Orme, Brown & Green, eds. A practical treatise of diseases of the eye. London, 1830; p.580.

8. von Graefe V. Ueber die iridectomie bei glaucom and und uber den glaucomatosen prozess. Arch Ophthalmol. 1857;3:470.
9. Muller H. Anatomische beitrage zur ophthalmologie: Uber nerveanveranderungen na der eintrittsstelle des schnerven. Arch Ophthalmol. 1858;4:1-39.
10. Anderson DR. Glaucoma: the damage caused by pressure. XLVI Edward Jackson memorial Lecture. Am J Ophthalmol. 1989; 108:485-95.
11. Drance SM. Bowman Lecture. Glaucoma—changing concepts. Eye. 1992;6:337-45.
12. Gaasterland D, Tanishima T, Kuwabara T. Axoplasmic flow during chronic experimental glaucoma. I. Light and electron microscopic studies of the monkey optic nerve head during development of glaucomatous cupping. Invest. Ophthalmol Vis Sci. 1978;17:838-46.
13. Quigley HA, Addicks EM. Chronic experimental glaucoma in primates. II. Effect of extended intraocular pressure elevation on optic nerve head and axonal transport. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1980;19:137-152.
14. Quigley HA, Hohman RM, Addicks EM, Green WR. Blood vessels of the glaucomatous optic disc in experimental and human eyes. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1984;25:918-31.

15. Leske MC, Connell AM, Wu SY, Hyman LG. Risk factors for open-angle glaucoma. The Barbados Eye Study. Arch Ophthalmol. 1995;113:916-24.
16. Sommer A, Tielsch JM, Katz J, Quigley HA, Gottsch JD, Javitt J, Singh K. Relationship between intraocular pressure and primary open angle glaucoma among white and black Americans. The Barbados Eye Study Arch Ophthalmol. 1991;109:1090-5.
17. Wilson MR, Hertzmark E, Walker AM, Childs-Shaw K, Epstein DL. A case-control study of risk factors in open-angle glaucoma. Arch Ophthalmol. 1987;105:1066-71.
18. Tielsch JM, Sommer A, Katz J, Royall RM, Quigley HA, Javitt J. Racial variations in the prevalence of primary open angle glaucoma. The Baltimore eye survey. JAMA. 1991;266:369-74.
19. Grant WM, Burke JF. Why do some people go blind from glaucoma? Ophthalmology. 1982;89:991-98.
20. Hattenhauer MG, Jonhanson DH, Ing HH, Herman DC, Hodge DO, Yawn BP, Butterfield LC, Gray DT. The probability of blindness from open-angle glaucoma. Ophthalmology. 1988;105(11):2099-104.

21. Kass MA, Heuer DK, Higginbotham EJ, et al. The Ocular Hypertension Treatment Study: a randomized trial determines that topical ocular hypotensive medication delays or prevents the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol*. 2002;120:701-713.
22. Migdal C. Rational choice of therapy in established open angle glaucoma. *Eye*. 1992;6(4):346-7.
23. Janz NK, Wren PA, Lichter PR, Musch DC, Gillespie BW, Guire KE, Mills RP. The Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study: interim quality of life findings after initial medical or surgical treatment of glaucoma. *Ophthalmology*. 2001;108(11):1954-65.
24. The AGIS investigators. The Advanced Glaucoma Intervention Study (AGIS): The relationship between control of intraocular pressure and visual field deterioration. *Am J Ophthalmol*. 2000;130:429-440.
25. Wilson RP, Steinmann WC. Use of trabeculectomy with postoperative 5-fluorouracil in patients requiring extremely low intraocular pressure levels to limit further glaucoma progression. *Ophthalmology*. 1991;98(7):1047-52.
26. Cairns JE. Trabeculectomy. Preliminary report of a new method. *Am J Ophthalmol*. 1968;66(4):673-9.

27. Chen TC, Wilensky JT, Viana MA. Long-term follow-up of initially successful trabeculectomy. *Ophthalmology*. 1997;104(7):1120-5.
28. Palmberg PF. The role of IOP in the success or failure of medical and/ or surgical therapy. In: Preferred practice pattern for primary open –angle glaucoma, appendix I. San Francisco, CA. American Academy of Ophthalmology. 1992.
29. Maumenee AE. External filtering operations for glaucoma: the mechanism of function and failure. *Trans. Am Ophthalmol Soc*. 1960;58: 319-28.
30. Epstein DL. General considerations. In: Epstein DL. Chandler and Grant's glaucoma. Philadelphia, Lea & Febiger. 1986; p 3-13.
31. Epstein DL. Primary open-angle glaucoma. In: Epstein DL. Chandler and Grant's glaucoma. Philadelphia, Lea & Febiger. 1986; p129-80.
32. Fridenwald JS. Some problems in the diagnosis and treatment of glaucoma. *Am J Ophthalmol*. 1950; 33: 1523-38.
33. Simmons RJ. Filtering operations. In: Epstein DL. Chandler and Grant's glaucoma. Philadelphia, Lea & Febiger. 1986; p420-50.

34. Skuta GL, Parrish RK. 2nd. Wound healing in glaucoma filtering surgery. *Surv Ophthalmol*. 1987;32(3):149-70.
35. Costa VP, Spaeth GL, Eiferman RA, Orengo-Nania S. Wound healing modulation in glaucoma filtration surgery. *Ophthalmic Surg*. 1993;24(3):152-70.
36. Watson PG, Jakeman C, Ozturk M, Barnett MF, Barnett F, Khaw KT. The complications of trabeculectomy (a 20-year follow-up). *Eye*. 1990;4(3):425-38.
37. Mills KB. Trabeculectomy: a retrospective long-term follow-up of 444 cases. *Br J Ophthalmol*. 1981;65(11):790-5.
38. Alvarado J. The use of a liposome-encapsulated 5-fluoroorotate for glaucoma surgery: I. Animal studies. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1989;87:459-514.
39. Herchler J. Long-term results of trabeculectomy with collagen sponge implant containing low-dose antimetabolites. *Ophthalmology*. 1992;99:666-71.
40. Lee DA, Goodwin T, Panek WC, Leong KW, Glasgow BJ. Effects of cytosine arabinoside-impregnated biorodible polymers on glaucoma filtration surgery in rabbits. *J Glaucoma*. 1993;2:96-100.

41. Binder S, Riss B, Skorpik C, Kulnig W. Inhibition of experimental intraocular proliferation with intravitreal 5-fluorouracil. *Graef's Arch Clin Exp.* 1993;221: 126-29.
42. Yamamoto T, Varani J, Soong HK, Lichter PR. Effects of 5-fluoracil and mitomicin C on culture rabbit subconjunctival fibroblast. *Ophthalmology.* 1990;97:1202-10.
43. Blumenkranz MS, Clalin A, Hajek AS. Selection of therapeutic agents for intraocular proliferative disease. Cell culture evaluation. *Arch Ophthalmol.* 1984;102:598-604.
44. Blumenkranz MS, Claflin A, Hajek AS. Fluorouracil for treatment of massive periretinal proliferation. *Am J Ophthalmol.* 1982;94:458-467.
45. Liebmann JM, Ritch R, Marmor M, et al. Initial 5-fluorouracil trabeculectomy for uncomplicated glaucoma. *Ophthalmology.* 1991;98:1036-41.
46. Goldenfeld M, Krupin T, Ruderman JM, et al. 5-Fluorouracil in initial trabeculectomy: a prospective, randomized, multicenter study. *Ophthalmology.* 1994;101:1024-29.

47. Hata R, Sano Y, Sugawara R, Matsum A, Kanamori K, Shima T, Hoshi T. Mitomicin , a new antifibrotic from streptomyces. J Antibiot (Tokyo) Ser A. 1956;9:141.
48. Wakaki S, Mamuro H, Tomioka K, Shimizu G, Kato E, Kamada H, Kudo S, Fujimoto Y. Isolation of new fractions of antitumor mitomycins. Antibiot Chemoter. 1958;8(4):228-40.
49. Bergstrom TJ, Wilkinson WS, Skuta GL, Watnick RL, Elener VM. The effects of subconjunctival mitomycin-C on glaucoma filtration surgery in rabbits. Arch Ophthalmol. 1991;109:1725-30.
50. Wilson RP, Steinmann WC. Use of trabeculectomy with postoperative 5-fluorouracil in patients requiring extremely low intraocular pressure levels to limit further glaucoma progression. Ophthalmology. 1991;94:1047-52.
51. Pasquale LR, Thibault D, Dorman-Pease ME, Quigley HA, Jampel HD. Effect of topical mitomycin-C on glaucoma filtration surgery in monkeys. Ophthalmology. 1992;99:14-8.
52. Khaw PT, Doyle JW, Sherwood MB, Grierson I, Mc Gorray S. Prolonged localized tissue effects from 5-minute exposure to fluorouracil and mitomycin-C. Arch Ophthalmol. 1993;111: 263-7.

53. Khaw PT, Doyle JW, Sherwood MB, Smith MF, Mc Gorray. Effects of intraoperative 5-fluorouracil or mitomycin-C on glaucoma filtration surgery in the rabbit. *Ophthalmology*. 1993;100:367-72.
54. Karp CL, Higginbotham EJ, Griffin EO. Adjunctive use of transconjunctival mitomycin-C in ab-externo diode laser sclerostomy surgery in the rabbit. *Ophthalmic Surg*. 1994;25:22-7.
55. Mori S, Murakami N, Kunitomo N. Postoperative treatment of pterygium with mitomycin-C. A clinical follow-up. *Jpn J Ophthalmol*. 1968;12:30-6.
56. Chen CW. Enhanced intraocular pressure controlling effectiveness of trabeculectomy by local application of mitomycin-C. *Trans Ásia-Pacific Acad Ophthalmol*. 1983;9:172-7.
57. Mandal AK, Prasad K, Naduvilath TJ. Surgical results and complications of mitomycin C-augmented trabeculectomy in refractory developmental glaucoma. *Ophthalmic Surg Lasers*. 1999;30(6):473-80.
58. Megevan GS, Salmon JF, Scholtz RP, Murray AD. The effect of reducing the exposure time of mitomycin C in glaucoma filtering surgery. *Ophthalmology*. 1995; 102(1):84-90.

59. Mietz H, Addicks K, Diestelhorst M, Krieglstein GK. Extraocular application of mitomycin C in a rabbit model: cytotoxic effects on the ciliary body and epithelium. *Ophthalmic Surg.* 1994;25(4):240-4.
60. Cunliffe IA, Dapling RB, West J, Longstaff S. A prospective study examining the changes in factors that affect visual acuity following trabeculectomy. *Eye.* 1992;6(6):618-22.
61. Nuyts RM, Felten PC, Pels E, Langerhost CT, Geijssen HC, Grossniklaus HE, Greve EL. Histopathologic effects of mitomycin C after trabeculectomy in human glaucomatous eyes with persistent hypotony. *Am J Ophthalmol.* 1994;118(2):225-37.
62. Palmer SS. Mitomycin as adjunct chemotherapy with trabeculectomy. *Ophthalmology.* 1991;98: 317-21.
63. Kitazawa Y, Kawase K, Matsushita H, Minobe M. Trabeculectomy with mitomycin: a comparative study with fluorouracil. *Arch Ophthalmol.* 1991;109:1693-8.
64. Skuta GL, Beeson CC, Higginbotham EJ, Klein TB, Falck FY. Intraoperative mitomycin versus postoperative 5-fluorouracil in high risk glaucoma filtering surgery. *Ophthalmology.* 1992;99: 438-44.

65. Mietz H, Raschka B, Kriegelstein GK. Risk factors for failures of trabeculectomies performed without antimetabolites. *Br J Ophthalmol.* 1999;83(7):814-21.
66. Norris EJ, Schiffman JC, Palmberg PF, Mello PAA. Resultados a longo prazo do uso de drogas antiproliferativas na trabeculectomia primária. *Arq Bras Oftalmol.* 2002;65:409-13.
67. Bindlish R, Comdan GP, Schlosser M.S, et al. Efficacy and safety of mitomycin-C in primary trabeculectomy. *Ophthalmology.* 2002;109:1336-42.
68. Trelford JD, Trelford-Sauder M. The amnion in surgery, past and present. *Am J Obstet Gynecol.* 1979;134:833-45.
69. Dua HS, Gomes JAP, King AJ, Maharajan VS. The amniotic membrane in ophthalmology. *Surv Ophthalmol.* 2004;49:51-77.
70. Colacho G, Graham WP, Greene AE, Matheson DW, Lynch D. Human amniotic membrane as a physiologic wound dressing. *Arch Surg.* 1974;109:370-3.
71. Kim JC, Tseng SC. Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit corneas. *Cornea.* 1995;14:473-84.

72. De Roth A. Plastic repair of conjunctival defects with fetal membrane. Arch Ophthalmol. 1940;23:522-525.
73. Sorsby A, Symons HM. Amniotic membrane grafts in caustic burns of the eye. Br J Ophthalmol. 1946;30:337-345.
74. Tsubota K, Satake Y, Ohyama M, Toda I, Takano Y, Ono M, et al. Surgical reconstruction of the ocular surface in advanced ocular cicatricial pemphigoid and Stevens-Johnson syndrome [commented on Am J Ophthalmol. 1996;122:914-5]. Am J Ophthalmol. 1996;122:38-52.
75. Tseng SC, 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.
76. Shimazaki J, Yang HY, Tsubota K. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in patients with chemical and thermal burns [commented on Ophthalmology. 2000;107:411-2]. Ophthalmology. 1997; 104:2068-76.
77. Tseng SC, Prabhasawat P, Lee SL. Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. Am J Ophthalmol. 1997;124:765-74.

78. Tseng SC, Tsubota K. Important concepts for treating ocular surface and tear disorders. *Am J Ophthalmol*. 1997;124:825-35.
79. Prabhasawat P, Tseng SC. Impression cytology study of epithelial phenotype of ocular surface reconstructed by preserved human amniotic membrane. *Arch Ophthalmol*. 1997;115:1360-7.
80. Shimazaki J, Kosaka K, Shimmura S, et al. Amniotic Membrane Transplantation with Conjunctival autograft for recurrent pterygium. *Ophthalmology*. 2003;110:119-124.
81. Gomes JAP. Atualização no tratamento das ceratoconjuntivites cicatríciais. *Arq Bras Oftalmol*. 2000;63:91-96.
82. Lee S, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. *Am J Ophthalmol*. 1997;123:303-12.
83. Prabhasawat P, Barton K, Burkett G, Tseng SC. Comparison of conjunctival autografts, amniotic membrane grafts and primary closure for pterygium excision. *Ophthalmology*. 1997;104:974-85.
84. Lee SL. Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. *Am J Ophthalmol*. 1997;124:765-74.

85. Barton K, Budenz DL, Khaw PT, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation in glaucoma surgery [abstract]. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1997;38 (4 Pt 2):S473.
86. Choi YS, Kim JY, Wee WR, Lee JH. Effect of the application of human amniotic membrane on rabbit corneal wound healing after excimer laser photorefractive keratectomy. Cornea. 1998;17:389-95.
87. Tsene SCG. Ocular surface reconstruction. In: Parrish II RK. Atlas of ophthalmology. 1ª Edição, Philadelphia, 2000; 164-173.
88. 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.
89. Kim JS, Park SW, Kim JH, Lee SL, 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.
90. Moreira H, Oliveira CS. Transplante de membrana amniótica. Arq. Bras. Oftal. 2000;63(4):303-305.

91. Pires RT, Pires JL, Tseng SC. Transplante de membrana amniótica para reconstrução da superfície corneana e conjuntival. *Arq Bras. Oftal.* 1999;62(3):340-349.
92. Adinolfi M, Akle CA, McColl I, Fenson AH, Tansley L, Connolly P, et al. Expression of HLA antigens, b₂-microglobulin enzymes by human amniotic epithelial cells. *Nature.* 1982;295:325-27.
93. Rakowska E, Zagorski Z, Kardaszewska A, Durakiewicz D. Application of amniotic membrane transplantation in severe corneal diseases. *Klin Oczna.* 1999;101:417-21.
94. Gomes JAP, Komagone CM, Santos N. Membrana Amniótica nas cirurgias reconstrutivas da superfície ocular nas ceratoconjuntivites cicatriciais. *Arq Bras Oftalmol.* 1999;62:562-76.
95. Meller D, Maskin SL, Pires RTF, Tseng SC. Amniotic transplantation for symptomatic conjunctivochalasis refractory to medical treatments. *Cornea.* 2000;19:796-803.
96. Ma DH, See LC, Liao SB, Tasi RJ. Amniotic membrane graft for primary pterygium: comparison with conjunctival autograft and topical mitomycin C treatment. *Br J Ophthalmol.* 2000;84:973-78.

97. Shimazaki J, Shinozaki N.; Tsubota K. Transplantation of amniotic membrane with and limbal autograft for patients with recurrent pterygium associated with symblepharom. *Ophthalmology*. 1998;82:235-240.
98. Solomon A, Espana EM, Tseng SC. Amniotic menbrane transplantation for reconstruction of the conjuctival fornices. *Ophthalmology*. 2003;110:93-100.
99. Pires RT, Tseng SC, Prabhasawat P, Puangsricharern V, Maskin SL, Kim JC, et al. Amniotic membrane transplantation for symptomatic bullous keratopathy. *Arch Ophthalmol*. 1999;117:1291-7.
100. Fujishima H, Shimazaki J, Shinozaki N, et al. Trabeculectomy with the use of amniotic membrane for uncontrollable glaucoma. *Ophthalmic Surg Lasers*. 1998;29:428-431.
101. Budenz DL, Barton K, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for repair of leaking glaucoma filtering blebs. *Am J Ophthalmol*. 2000; 130:580-8.
102. Gomes JA, Fernandes LH, Komagome CM, Lima AL, Prata Jr JA. Uso de membrana amniótica no tratamento de complicações pós-trabeculectomia. *Arq Bras Oftalmol*. 2001;64:437-41.

103. Barton K, Budenz DL, Khaw PT, et al. Glaucoma filtration surgery using amniotic membrane transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001; 42:1762-1768.
104. Demir T, Turgut B, Akayol N, et al. Effects of amniotic membrane transplantation and mitomycin C on wound healing in experimental glaucoma surgery. *Ophthalmologica*. 2002;216(6):438-442.
105. Sussana Jr R, Costa VP, Malta RFS, Barboza WL, Vasconcellos JPC. Intraoperative mitomycin-C without conjunctival and Tenon's capsule touch in primary trabeculectomy. *Ophthalmology*. 2001;108:1039-42.
106. Addicks EM, Quigley HA, Green WR, Robin AL. Histologic characteristics of filtering blebs in glaucomatous eyes. *Arch Ophthalmol*. 1983;101:795-8.
107. Rasheed S. Initial trabeculectomy with intraoperative mytomycin-C application in primary glaucomas. *Ophthalmic Surg Laser*. 1999;30:360-366.
108. Suner IJ, Greenfield DS, Miller MP, et al. Hypotony maculopathy after filtering surgery with mitomycin C. Incidence and treatment. *Ophthalmology*. 1997;104:207-14.

109. Cadera W, et al. Filtering surgery in childhood glaucoma. *Ophthalmic Surg.* 1984;15:319.
110. Gressel MG, Heuer DK, Parrish RKI. Trabeculectomy in young patients. *Ophthalmology.* 1984;91:1242.
111. Shaffer RN, Weiss DI. *Congenital and pediatric Glaucomas.* St. Louis Mosby, 1970.
112. Pimentel RL, Santos RO, Dantas MA, et al. Complicações do uso intra-operatório de mitomicina C em trabeculectomias. *Arq Bras Oftalmol.* 1998; 61(3):305-10.
113. Heijl A, Leske MC, Bengtsson B, Hyman L, Bengtsson B, Hussein M. Early Manifest Glaucoma Trial Group. Reduction of intraocular pressure and glaucoma progression. *Arch Ophthalmol.* 2002;120:1268-79.
114. Collaborative Normal-Tension Glaucoma Study Group. The effectiveness of intraocular pressure reduction in the treatment of normal tension glaucoma. *Am J Ophthalmol.* 1998;126:498-505.
115. Leske MC, Heijl A, Hussein M, Bengtsson B, Hyman L, Komaroff E. Early Manifest Glaucoma Trial Group. Factors for glaucoma progression and the effect of treatment. *Arch Ophthalmol.* 2003;121:48-56.

116. Cheung JC, Wrigth MM, Murali S, Pederson JE. Intermediate-term outcome of variable dose mitomycin C filtering surgery. *Ophthalmology*. 1997;104:143-149.