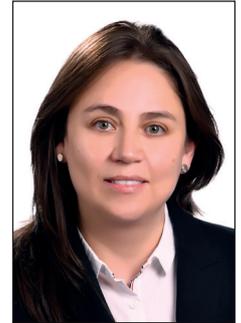


Experiencia con el uso de membrana amniótica, ¿qué hacemos si no tenemos un banco de tejidos?

Our experience with the use of amniotic membrane, what do we do if we do not have a tissue bank?



Peláez Flores A.

Alejandra PELÁEZ FLORES*

Resumen

Introducción y objetivo. Existen diferentes tipos de sustitutos cutáneos, entre ellos, la membrana amniótica humana es el más antiguo de todos. Posee diferentes propiedades: actúa como barrera analgésica, es antimicrobiana, antiinflamatoria, promueve la epitelización y disminuye la fibrosis, entre otras. Su uso está descrito en diferentes tipos de heridas, como úlceras crónicas, úlceras vasculares refractarias, quemaduras, etc.

El objetivo de este trabajo es presentar nuestra experiencia con el uso de membrana amniótica humana en diferentes tipos de heridas en un centro especializado en La Paz, Bolivia, donde no contamos con un banco de tejidos ni tenemos disponibilidad de membrana amniótica en su forma comercial.

Material y método. Estudio retrospectivo en el que describimos la forma de obtención, almacenaje y uso de membrana amniótica humana en diferentes casos, y su comportamiento mientras está almacenada en frío.

Resultados. Presentamos 4 casos clínicos a manera de ejemplo: quemadura, hematoma disecante con herida crónica, quemadura química y mordedura de perro. En relación a la conservación de la membrana amniótica, en nuestro estudio estuvo libre de contaminación hasta los 3 meses.

Conclusiones. En nuestra experiencia, la membrana amniótica es un sustituto dérmico útil y de fácil obtención que se puede usar en diversos tipos de heridas, con un almacenamiento que nos resultó sencillo y que creemos puede ser fácilmente reproducible en aquellos lugares que no cuentan con un banco de tejidos.

Abstract

Background and objective. There are different types of skin substitutes, including human amniotic membrane, which is the oldest of all. It has different properties: it acts as an analgesic barrier, is antimicrobial, anti-inflammatory, promotes epithelialization and reduces fibrosis, among others. Its use is described in different types of wounds, such as chronic ulcers, refractory vascular ulcers, burns, etc.

The aim of this paper is to present our experience with the use of human amniotic membrane in different types of wounds in a specialized center in La Paz, Bolivia, where we do not have a tissue bank nor do we have amniotic membrane available in its commercial form.

Methods. Retrospective study describing the method of obtaining, storing and using human amniotic membrane in different cases, and its behavior while it is stored in cold storage.

Results. We present 4 clinical cases as an example: burn, dissecting hematoma with chronic wound, chemical burn and dog bite. Regarding the conservation of the amniotic membrane, in our study it was free of contamination for up to 3 months.

Conclusions. In our experience, the amniotic membrane is a useful and easy-to-obtain dermal substitute, which can be used in various types of wounds, with a storage that was simple for us and that we believe can be easily reproduced in those places that do not have a tissue bank.

Palabras clave Membrana amniótica, Heridas, Quemaduras, Conservación tejidos.

Nivel de evidencia científica 4c Terapéutico
Recibido (esta versión) 16 mayo / 2024
Aceptado 6 septiembre / 2024

Key words Amniotic membrane, Wounds, Burns, Tissue conservation.

Level of evidence 4c Therapeutic
Received (this version) May 16 / 2024
Accepted September 6 / 2024

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener ningún interés financiero relacionado con el contenido de este artículo.
Financiación: No hubo fuentes externas de financiación para este trabajo.

* Cirujano Plástico, Clínica Alemana, La Paz, Bolivia.

Introducción

El sustituto dérmico ideal es aquel que promueve la curación, disminuye el dolor, disminuye el riesgo de infección, previene la formación de cicatriz, es de fácil aplicación, confortable, de bajo costo y de uso sencillo.⁽¹⁾ La membrana amniótica (MA), como sustituto dérmico, cumple con todos estos requisitos y su uso sigue siendo útil en la actualidad, en especial en nuestro medio, Bolivia, donde estamos limitados para el uso de otros sustitutos dérmicos y a pesar de que no contamos con un banco de membranas ni con MA en presentaciones comerciales, dado que su metodología de obtención y su fácil almacenamiento se adaptan perfectamente a la realidad de países como el nuestro.

Si vamos más allá, sabemos que la medicina regenerativa ha revolucionado el proceso de ingeniería de tejidos y algunos estudios han demostrado que la regeneración tisular se lleva a cabo a través de una secreción paracrina que forma vesículas extracelulares de diferente composición dependiendo de las circunstancias ambientales de su alrededor, y de diferenciación celular determinada por las células madre mesenquimales.^(2,3) Diferentes estudios clínicos señalan que la MA está siendo utilizada como fuente de células madre mesenquimales por su excepcional perfil celular.⁽⁴⁾

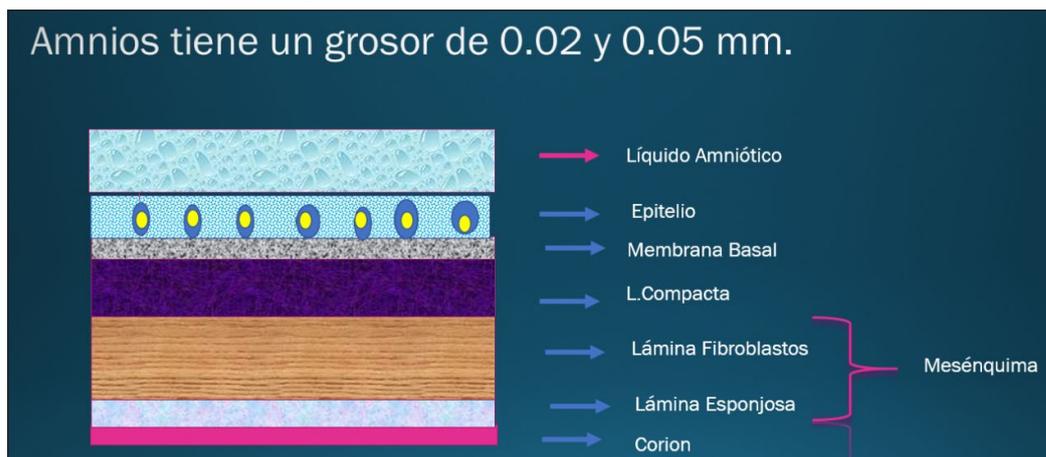
La placenta tiene dos superficies, una materna y una fetal; si observamos la pared materna podemos ver que es de color rojo vinoso, presenta hendiduras que subdividen esta superficie en 15 a 20 cotiledones cubiertos por una delgada capa de decidua basal. La superficie fetal de la placenta es de color gris brillante y está totalmente cubierta por la placa coriónica. La estructura de las membranas está compuesta por 3 capas, que de dentro a fuera son: amnios, corion y decidua.⁽⁵⁾ El amnios es una membrana flexible, fuerte y resistente. Es una estructura avascular que está en contacto con el líquido amniótico y es el tejido que provee casi toda la resistencia a la tensión de la bolsa amniótica.

El amnios de fertilización tiene entre 0.02 y 0.05 mm de espesor y está compuesto por 5 capas que de dentro a fuera son: una capa epitelial, una membrana basal, una capa compacta acelular, una capa de fibroblastos y una capa esponjosa, relativamente acelular, que contacta con el corion. El epitelio

es la capa más interna, consta de una sola capa de células cuboideas y se encuentra en contacto directo con el líquido amniótico. En el borde de la membrana basal las células contienen proyecciones romas que se intercalan con procesos similares formando un enlace densamente adherente.⁽⁶⁾ La membrana basal que deriva del mesodermo es una capa delgada compuesta de fibras reticulares. La capa de fibroblastos es la capa más gruesa y está compuesta por una red de fibroblastos sueltos dentro de una matriz de reticulina. Por último, la capa esponjosa representa la capa de transición entre el amnios y el corion y está compuesta por haces de reticulina dentro de un fondo de mucina. La capa compacta fibroblástica y esponjosa se conocen como mesénquima amniótico y se origina en el mesodermo embrionario (Esquema 1). El mesénquima contiene colágeno I-VII y proteínas no colágenas como elastina, laminina, fibronectina y vitronectina. Los colágenos tipo I, II y III y elastina son los que dotan al amnios de las siguientes propiedades: resistencia, tracción y elasticidad. El mesodermo de la MA es básicamente un conjunto de células inmunitarias y fibroblastos.

La MA tiene una estructura molecular única que la hace impenetrable a la respuesta inmunitaria sistémica materna; el componente celular supresor de la actividad inmunitaria se hace a través de una secreción paracrina. Esto supone que la aplicación de la membrana, puede prevenir el rechazo celular.⁽⁷⁾ Además, la MA tiene diferentes características que ayudan a la epitelización y la regeneración tisular. Contiene citoquinas y factores de crecimiento, entre las que podemos mencionar a la IL17 que se encuentra en la mesénquima. La membrana basal contiene factores de crecimiento TGF-1, TGF-3 que intervienen en el proceso de curación de heridas; factor de crecimiento endotelial, factor de crecimiento insulínico, que son importantes en la neovascularización; colágeno tipo IV, VII, fibronectina y ácido hialurónico.⁽⁸⁻¹⁰⁾

Esquema 1. Anatomía de la membrana amniótica.



Esquema 2. Funciones biológicas de la membrana amniótica.



3.- Se han realizado todos los estudios posibles para descartar la presencia de enfermedades del donante transmisibles por el amnios (neoplasias e infecciones TORCH (toxoplasmosis, rubéola citomegalovirus, herpes simple y VIH), hepatitis B o C, etc. El consentimiento para el receptor hace referencia a los siguientes puntos:

La MA, por su estructura, hace posible la ingeniería tisular y ella misma funciona como un medio de cultivo celular⁽¹¹⁾ (Esquema 2).

Para nosotros la obtención de este material resulta sencilla y habitual, dado que en la Clínica Alemana de la ciudad de La Paz, en Bolivia, se llevan a cabo un promedio de 15 cesáreas al mes, y de esas 15 pacientes, un 85% cumplen con los requisitos para ser donantes de MA.

El objetivo de este trabajo es presentar nuestra experiencia con el uso de MA humana aportando detalles técnicos sobre su cosecha, proceso de mantenimiento y aplicación en diferentes tipos de heridas.

Material y método

Obtención de la membrana amniótica

En nuestra práctica, las donantes de MA cumplen los siguientes criterios de inclusión: gestación a término, gestación de 34 semanas o más, no sufrimiento fetal, no enfermedades infecciosas o degenerativas, y cesárea electiva. Los criterios de exclusión son: embarazo sin seguimiento médico, patología obstétrica, infección perinatal, gestación menor de 34 semanas, bolsa rota, fiebre materna y pacientes portadoras de enfermedades infecciosas.

Empleamos consentimientos informados que van dirigidos a la donadora y al receptor.

El consentimiento para la donadora tiene los siguientes acápites:

- 1.- El fragmento de membrana amniótica que se va a trasplantar es obtenido de una cirugía de cesárea, donada de forma voluntaria.
- 2.- Tal donación es totalmente desinteresada y no se percibe compensación económica alguna por ello.

- 1.- El fragmento de membrana amniótica que se va a trasplantar procede de la placenta de una mujer que la ha donado tras una cirugía de cesárea, por voluntad propia.
- 2.- Va a ser sometido a un trasplante de membrana amniótica procedente del banco de membranas.
- 3.- Le han sido explicados y comprende los riesgos relacionados con dicho procedimiento.
- 4.- Autoriza la realización del trasplante de membrana amniótica.

Preparación de la membrana amniótica

Una persona entrenada para la preparación de la MA tiene lista una mesa de Mayo diferente a la usada en la cirugía de cesárea y aguarda el alumbramiento.



Fig. 1. Manejo de la membrana amniótica para su conservación.

Cosecha: tras el alumbramiento, se separa el amnios de la placenta por simple disección manual y se lava con solución fisiológica varias veces, cambiando de solución en cada lavado; el propósito es eliminar los posibles patógenos y los coágulos de sangre. Una vez que la MA queda limpia y transparente se procede a almacenarla en un frasco estéril que contiene 50 cc de solución fisiológica con 80 mg de gentamicina, el cual se rotula con la fecha y se la asigna un código. Luego este frasco se conserva de 2 a 10 °C; empleamos para ello un refrigerador pequeño (90 x 40 cm de profundidad), capaz de mantener una temperatura de 5°C (Fig.1).

Mantenimiento: cada 7 días, en condiciones de asepsia, se hace el recambio de la solución antibiótica y se escribe en el frasco la fecha del cambio de la solución, volviendo a refrigerarla.

Tiempo de almacenamiento: la MA suele conservarse durante un periodo máximo de 6 meses.

Método de aplicación

Para cualquier tipo de herida en la que se decida usar la MA seguimos la misma metodología.

Limpieza de la herida con solución antiséptica (preferimos clorhexidina).

Lavado de la MA de forma que podamos eliminar todo tipo de residuos, para lo cual usamos solución fisiológica cargada en una jeringa de 10 cc y, a manera de riego, lavamos 3 a 5 veces dependiendo de la extensión de la MA. Seguidamente, con ayuda de 2 pinzas Adson sin dientes, extendemos la MA sobre la herida de forma suave y gentil, asegurándonos de que la cubra en toda su extensión. Es importante aplicarla en una sola maniobra sin levantarla del lecho para acomodarla y teniendo cuidado de que la membrana del lado epitelial quede en contacto con la herida (Fig. 2).



Fig. 2. Colocación cuidadosa de la membrana amniótica sobre el lecho receptor.

Una vez aplicada la membrana, colocamos sobre ella una gasa vaselinada, gasa seca y sellamos de manera que la herida quede protegida. Dejamos esta curación sin tocar durante un promedio de 7 días, al cabo de los cuales curamos nuevamente la herida: descubrimos, retiramos toda la curación, hacemos limpieza de la misma con solución de clorhexidina; si fuese necesario retiramos los restos de MA y luego aplicamos una nueva membrana siguiendo el mismo procedimiento de lavado y curación mencionado anteriormente. Repetimos el mismo procedimiento hasta lograr la epitelización de la herida por completo.

Cuando usamos MA en cara la dejamos expuesta, sin usar antibióticos tópicos adicionales o apósitos, hasta que se desprege por sí sola; un promedio de 7 a 12 días aproximadamente. Entre el quinto y séptimo días, como la MA no está cubierta por apósitos, realizamos la curación de la herida de la siguiente manera: de forma gentil y delicada sacamos los restos secos de membrana si es que los hubiese, limpiamos la herida con solución salina y aplicamos una nueva membrana, así hasta conseguir la epitelización completa que suele suceder al decimo-segundo día.

Para ejemplificación del procedimiento, presentamos a continuación 4 casos clínicos.

Caso 1 Paciente mujer de 28 años de edad, sin comorbilidades agregadas, que sufre quemadura por fuego en cara, extremidades superiores, abdomen anterior y ambos muslos; ingresa con el diagnóstico de quemaduras de segundo grado profundo del 16% de superficie corporal total (SCT).

Realizamos el tratamiento de la siguiente manera: en la cara, que tenía una quemadura de segundo grado superficial, aplicamos MA de forma expuesta durante una semana, al cabo de la cual evidenciamos curación completa. En las extremidades superiores empleamos MA de 2 maneras: como cobertura temporal hasta obtener un lecho apto para injertar (piel parcial), y una vez injertada la zona utilizamos MA como apósito para cubrir los injertos.

En el abdomen, la MA sirvió como método de curación definitivo, para lo cual aplicamos la membrana durante 5 sesiones con una duración de una semana por sesión. Finalmente, en los muslos, la empleamos como método de curación definitivo de las quemaduras y de las zonas dadoras de injerto de piel. El tiempo transcurrido en total para finalizar las curaciones fue de 8 semanas. En el inicio hicimos las curaciones cada cuarto día y luego las espaciamos a una vez por semana (Fig. 3-5).



Fig. 3-5. Caso 1. Paciente con quemaduras que afectan al 16% de SCT: estado inicial, durante el proceso de curas con membrana amniótica, y resultado a las 8 semanas.

Caso 2 Paciente varón de 45 años de edad que sufre caída desde su propia altura y recibe un golpe directo en la región anterior de la pierna que le provoca un hematoma disecante tratado por Medicina General y derivado luego a la consulta de Cirugía Plástica 3 semanas después del accidente. El caso se produjo durante la cuarentena por la pandemia COVID-19 del año 2020.

Decidimos realizar curaciones semanales con membrana amniótica, consiguiendo el cierre por segunda intención al cabo de 4 semanas (Fig. 6-8).

Caso 3 Paciente varón de 35 años de edad que tuvo una fractura de quinto metacarpiano y al que para extraerle el clavo de la osteosíntesis, le infiltraron accidentalmente formol en lugar de lidocaína. Acude a la consulta 3 semanas después, habiendo realizado curaciones con yodopovidona en crema por el servicio Traumatología.

Al examen encontramos una herida con pérdida de sustancia en el cuarto espacio interdigital de la mano dominante, profunda, de bordes irregulares, con edema y



Fig. 6-8. Caso 2. Herida como secuela de hematoma disecante en pierna: estado inicial, proceso de curas con membrana amniótica, y resultado a las 4 semanas.



Fig. 9-11. Caso 3. Quemadura química en mano: estado inicial, proceso de curación con aplicación de membrana amniótica, y resultado a los 14 días.

eritema perilesional y dolorosa. El test de Alem digital fue positivo y no había lesión neurovascular digital.

Con el diagnóstico de quemadura química en mano decidimos realizar, bajo anestesia local, limpieza quirúrgica y curación de la herida con MA. Hicimos las siguientes curaciones en consultorio con intervalos de 7 días, consiguiendo a los 14 días el cierre completo de la herida (Fig. 9-11).

Caso 4

Paciente varón de 27 años de edad que sufre mordedura de can en cara, presentando como consecuencia múltiples heridas esfaceladas en región geniana izquierda.

Iniciamos terapia antibiótica vía oral e inmediatamente aplicamos la MA en curación expuesta con cambios cada 7 días, logrando curación al cabo de 3 semanas (Fig. 12-14).

En relación a la membrana

Para nuestro estudio dividimos el total de pacientes tratados en 2 grupos:

- Grupo 1: aquellos en los que la superficie de curación era de 30 cm de largo por 20 cm de ancho (hoja tamaño oficio) o más. En estos pacientes utilizamos siempre una membrana recién cultivada o con un máximo de 3 semanas de almacenamiento, por el hecho de que se necesitaba cubrir más superficie por día de curación.
- Grupo 2: pacientes con heridas de menos de 30 cm de largo. En ellos usamos membranas de más de 3 meses de almacenamiento. En 1 solo caso usamos MA de 7 meses de almacenamiento.

La primera MA obtenida fue en mayo del año 2020, llamada MA 0, de la que de forma mensual enviamos una pequeña muestra a Anatomía Patológica y otro fragmento para cultivo y antibiograma durante 16 meses. Esta membrana la usamos en los pacientes 1,2,7 y 9 de nuestra serie.



Fig. 12-14. Caso 4. Herida en cara por mordedura de can: estado inicial, proceso de cura en exposición con membrana amniótica, y resultado a las 3 semanas.

Tabla I. Cultivo de MA 12 meses

Muestra 1:		Membrana amniótica en solución fisiológica + gentamicina				
			24 HRS	48 HRS	72 HRS	7 DIAS
FECHA	9/1/2022	AGAR SANGRE	-	-	-	
		AGAR MACONKEY	-	-	-	
		AGAR SABOURAUD	-	-	-	-
FECHA	9/7/2022	AGAR SANGRE	-	-	-	
		AGAR MACONKEY	-	-	-	
		AGAR SABOURAUD	-	-	-	-
FECHA	9/14/2022	AGAR SANGRE	-	-	-	
		AGAR MACONKEY	-	-	-	
		AGAR SABOURAUD	-	-	-	
FECHA	9/22/2022	AGAR SANGRE	-	-	-	
		AGAR MACONKEY	-	-	-	
		AGAR SABOURAUD	-	-	-	
Muestra 2:		Membrana amniótica en solución fisiológica				
			24 HRS	48 HRS	72 HRS	7 DIAS
FECHA	9/1/2022	AGAR SANGRE	-	-	-	
		AGAR MACONKEY	-	-	-	
		AGAR SABOURAUD	-	-	-	-
FECHA	9/7/2022	AGAR SANGRE	-	-	-	
		AGAR MACONKEY	-	-	-	
		AGAR SABOURAUD	-	-	-	-
FECHA	9/14/2022	AGAR SANGRE	-	-	-	
		AGAR MACONKEY	-	-	-	
		AGAR SABOURAUD	-	-	-	
FECHA	9/22/2022	AGAR SANGRE	+	+	+	
		AGAR MACONKEY	+	+	+	
		AGAR SABOURAUD	-	-	-	

También estudiamos el comportamiento de la MA con estos métodos de conservación:

- MA tipo A = MA conservada en solución con antibiótico y en frío.
- MA tipo B = MA conservada en solución con antibiótico y sin frío.
- MA tipo C = MA conservada en solución sin antibiótico y sin frío.
- MA tipo D = MA conservada en solución sin antibiótico y con frío.

Todas las muestras fueron enviadas al Laboratorio Lacyt de la ciudad de La Paz, cada mes durante 1 año. En este laboratorio solamente se estudió el comportamiento de las membranas en los diferentes medios de conservación, sin realizar ningún cambio en la solución antibiótica en la que se conservaba, ni en la temperatura que fue de 5 °C. Al laboratorio Plexus, también de la ciudad de La Paz, enviamos 2 tipos de MA inmediatamente cosechadas, una con solución fisiológica más 80 mg de gentamicina y otra solo en solución fisiológica para control de esterilidad, control que se realizó con un pool de cepas que fueron sembradas en las membranas para observar la viabilidad de los microorganismos (Tabla I).

Resultados

Desde el año 2020, que fue azotado por pandemia y cuarentena de la COVID-19, comenzamos a desarrollar, evaluar y mejorar el uso de la MA a manera de adaptación a las circunstancias, por el hecho de que no contábamos con hospitales ni centros de salud disponibles para ingreso y/o atención a pacientes que no estuvieran infectados con el virus SARS-CoV-2.

Durante el mes de mayo de 2020 a julio de 2022 atendimos 65 pacientes con el método descrito (Tabla II). Destacamos de ellos los siguientes datos demográficos: sexo, 29 (44%) masculino y 36 (66%) femenino; edad media 32.5 años (mínima de 0.6, máxima 88 años).

Del total de pacientes, incluimos 13 en el Grupo A (lesiones de más de 30 cm de longitud) y 52 en el Grupo B (lesiones de menos de 30 cm de longitud).

En cuanto al tipo de lesiones tratadas, fueron quemaduras en 29 pacientes (44.6%) y lesiones por otras causas en 36 pacientes (55.3%); de estos últimos fueron: 10 heridas, 7 dehiscencias de herida, 6 mordeduras por can, 6 úlceras, 2 injertos, 2 traumatismos, 1 amputación de dedos, 1 queloide y 1 revisión de cicatriz.

Tabla II. Pacientes atendidos según edad, sexo, área comprometida, número de curaciones, días de tratamiento y tipo de membrana utilizada.

Paciente	Edad años	Sexo	Lugar de la lesión	Por quemadura	Otras lesiones	N° de curaciones	Fin de tratamiento/días	Grupo
1	35	M	Cara	Si	No	3	15	B
2	32	M	Cara manos	Si	No	5	20	B
3	0,6	M	Mano	Si	No	2	10	B
4	56	M	Pierna	No	Dehiscencia	4	15	A
5	25	F	Cara manos	Si	No	5	28	A
6	8	M	Cara,manos	Si	No	2	10	A
7	7	F	Pierna	No	Herida	2	12	A
8	13	F	Cara, cuello	Si	No	4	20	B
9	9	M	Cara	Si	No	3	10	A
10	11	M	Cara, torax ant, manos	Si	No	4	20	A
11	38	F	Mama	No	Dehiscencia de herida	2	10	B
12	37	F	Mama	No	Dehiscencia de herida	2	15	B
13	7	F	Pie	No	Mordedura de can	1	7	B
14	0,6	M	Mano	Si	No	2	10	B
15	21	M	Mano	No	Amputacion de dedos	3	20	B
16	49	M	Escroto	No	Herida	1	10	B
17	14	F	Cabeza	Si	No	5	60	B
18	4	F	Cara	No	Herida	3	20	B
19	33	M	Cara	No	Herida	3	20	B
20	62	F	Miembro inferior izq	No	Herida	3	25	A
21	69	M	Gluteo	No	Úlcera	4	25	B
22	39	F	Nariz	No	Herida	1	7	B
23	67	F	Maleolo der	No	Úlcera	6	30	B
24	41	M	Mano	No	Herida	1	6	B
25	9	M	Miembro inferior der	Si	No	2	10	A
26	2	F	Mano	Si	No	3	15	B
27	14	F	Cuello, torax ant	Si	No	4	20	A
28	24	M	Pierna, pie	Si	No	4	22	A
29	41	F	Muslo	No	Trauma	2	12	B
30	38	F	Mama	No	Dehiscencia de herida	2	10	B
31	52	M	Pierna	No	Herida	3	12	B
32	45	F	Cuello	Si	No	3	15	B
33	48	M	Pierna	No	Herida	3	17	B
34	37	M	Cabeza	Si	No	5	35	B
35	42	M	Abdome, torax ant	Si	No	5	25	A
36	38	F	Ombbligo	No	Dehiscencia de herida	3	14	B
37	49	M	Escroto	No	Injerto	2	14	B
38	64	F	Pierna der	No	Injerto	2	14	B
39	12	F	Cuello	Si	No	3	18	B
40	35	M	Manos	Si	No	3	16	B
41	51	F	Manos, brazo der	Si	No	2	12	A
42	48	M	Torax ant, brazos	Si	No	5	25	A
43	32	F	Ombbligo	No	Dehiscencia de herida	2	10	B
44	17	F	Cara	No	Mordedura de can	2	8	B
45	47	F	Cara	No	Mordedura de can	3	10	B
46	33	F	Torax post	Si	No	2	12	B
47	28	F	Muslo	Si	No	2	10	B
48	46	M	Mano	Si	No	2	10	B
49	25	M	Cara	No	Mordedura de can	2	10	B
50	8	M	Cara, brazo	Si	No	5	20	B
51	80	F	Sacro	No	Úlcera	2	10	B
52	88	F	Gluteo der	No	Úlcera	3	15	B
53	28	F	Pie	Si	No	2	8	B
54	72	F	Maleolo	No	Úlcera	3	12	B
55	20	F	Cara	No	Mordedura de can	2	8	B
56	9	M	Pierna	No	Trauma	2	10	B
57	39	M	Cara	No	Herida	3	14	B
58	23	F	Cara	No	Mordedura de can	1	7	B
59	43	F	Hombro	Si	No	1	10	B
60	29	M	Mano	Si	No	3	15	B
61	23	F	Orejas	No	Queloides	2	8	B
62	48	F	Mama	No	Dehiscencia de herida	6	25	B
63	83	F	Sacro	No	Úlcera	4	20	B
64	5	M	Cabeza	Si	No	4	25	B
65	27	F	Cara	No	Revisión de cicatriz	1	7	B

El número promedio de curaciones fue de 2.8 (mínimo de 1 y máximo de 6) y el tiempo medio de tratamiento fue de 15 días. No hubo complicaciones en ninguno de los casos.

Utilizamos con mayor frecuencia la MA de cosecha temprana (de 1 a 3 semanas de almacenamiento) en aquellos pacientes que necesitaron cubrir superficies extensas, de tamaño igual o mayor del 6% de SCT.

Utilizamos también y de forma indistinta membranas que ya estuvieron almacenadas hasta 6 meses en pacientes con heridas faciales o heridas pequeñas, que corresponde a menos del 4% de SCT, sin tener en ningún caso signos de infección.

Durante 12 meses y de forma mensual, enviamos a cultivo la MA tipo A (0), cultivo que fue siempre negativo.

En relación al método de conservación, encontramos que la MA conservada en antibiótico y en frío no tuvo desarrollo bacteriano en el lapso de 12 meses en el laboratorio Lacyt, que corresponde a la membrana denominada tipo A. El resto de las membranas sí tuvieron desarrollo bacteriano: la MA tipo B, conservada en solución antibiótica sin frío, presentó desarrollo al cabo de 3 meses; la MA tipo C, conservada sin antibiótico y sin frío, presentó desarrollo al segundo mes como promedio; y la MA tipo D se mantuvo libre de contaminación al cabo de la tercera semana.

En relación a las membranas que fueron enviadas para control de esterilidad, observamos que la MA conservada con gentamicina se mantuvo sin contaminación durante el mes del estudio. Y el estudio de Anatomía Patológica reportó que la membrana se mantuvo sin cambios estructurales hasta la semana 6; luego se observaron cambios involutivos.

En 1 solo caso usamos MA de 7 meses de conservación (paciente 31 de nuestra serie), sin haber tenido complicaciones.

Discusión

La curación de las heridas es un proceso dinámico y complejo en el que actúan diferentes tipos celulares, citoquinas y factores de crecimiento. La MA humana fue utilizada por primera vez como apósito biológico en el año 1910 por Davis.⁽¹²⁾ En la actualidad es ampliamente utilizada para la curación de heridas en diferentes formas: como apósito, como fuente de células madre, en combinación con polímeros y como injertos cutáneos. Entre otros usos, hemos recogido de la literatura publicada que ha sido utilizada también como método de curación en necrosis epidérmica tóxica, como cura expuesta en quemaduras faciales y como apósito biológico en quemaduras de pabellón auricular para prevenir la condritis.⁽¹³⁻¹⁵⁾

Iniciamos nuestro estudio en el periodo de cuarentena y restricciones debidas a la pandemia por SARS-CoV-2; es importante considerar que en este periodo los hospitales no contaban con camas disponibles, todos estaban rebasados en sus límites y tuvimos que adaptarnos disminuyendo el número de consultas y modificando las curaciones que hacíamos de forma regular. Antes de este periodo realizábamos las curaciones de las heridas en consultorio, cada tercer o cuarto día, usando diferentes tipos de apósitos: con plata, sin plata, con alginato de calcio, curaciones diarias con crema de nitrofurazona, etc. Frente a la situación por la que pasábamos (restricción de circulación, escasez de insumos médicos, imposibilidad de contar con consultorio a libre demanda, etc.) decidimos cambiar la frecuencia de las citas para los pacientes y utilizar MA como método de curación ya que nos permitía espaciar los intervalos y usar menos insumos.

En el mercado internacional existen diversos laboratorios que ofrecen MA en diferentes estados de conservación, sin embargo, en nuestro medio, no están disponibles; es por ello que impulsamos el uso de MA como apósito biológico o como cura definitiva dependiendo del caso, y utilizando MA de un banco local que puede ser implementado en cualquier centro hospitalario, que además otorga disponibilidad durante las 24 horas del día y que tiene un mantenimiento de bajo costo.

Se conoce bastante acerca de las propiedades biológicas derivadas de todos los componentes estructurales de la MA,⁽⁵⁾ propiedades que ya han sido detalladas en el apartado de Introducción. A pesar de sus grandiosas características biológicas y cuidados en su conservación, existe posibilidad de que pueda transmitir infecciones bacterianas, fúngicas o virales. En relación a este punto, en la literatura está descrito un porcentaje de entre el 1.6 y el 8% de casos en muestras de 5000 a 6000 trasplantados.⁽¹⁶⁾ Además el método de conservación debe ser manejado con mucho cuidado. Algunos estudios han demostrado disminución de la viabilidad tras un periodo de más de 6 meses.⁽¹⁷⁾ En nuestra experiencia, observamos que la MA conservada en frío y en solución antibiótica permanece libre de contaminación durante el año que duró la realización del estudio; sin embargo, por razones de seguridad, preferimos utilizar MA de hasta un máximo de 6 meses de almacenamiento. Es importante recalcar que dada la disponibilidad de MA (relación promedio de cesáreas realizadas en nuestro centro frente al número de pacientes atendidos), no precisamos mayor tiempo de almacenamiento. En 1 solo caso hemos utilizado MA con 7 meses desde su cosecha, sin tener complicaciones y solo con fines de estudio.

En cuanto a nuestra metodología de conservación, remarcar que una vez cosechada, la MA es conservada en un frasco estéril con 50 cc de solución fisiológica más 80 mg de gentamicina a 5 °C, y no requerimos otro tipo de tecnología, llámese proceso de liofilización, criopreservación, ni personal altamente capacitado tanto para la cosecha como para la preservación.

Entre los mecanismos terapéuticos que posee la membrana amniótica podemos describir:

- Barrera analgésica. Al aplicar el amnios en el lecho de la herida, evita la desecación, la pérdida excesiva de líquido y proporciona un efecto analgésico al proteger los extremos nerviosos expuestos al medio ambiente.⁽¹⁸⁾
- Material no inmunogénico. Los estudios radiobiológicos sugieren que aunque las células del amnios conservan la capacidad de sintetizar HLA, no lo hacen en la superficie celular. Tiene capacidad inmunosupresora e inmunomoduladora, disminuyendo la actividad inflamatoria celular, inhibiendo la migración celular y reclutando células inmunes al tejido dañado. Por tanto, no es difícil creer que las células de MA sean fuente de terapias celulares.⁽¹⁹⁾
- Antiinflamatorio y antibacteriano. Las células epiteliales amnióticas contienen interleucina 10 (IL-10) que regula negativamente la expresión de citosinas Th1, antígenos de clase II del complejo principal de histocompatibilidad y moléculas coestimuladoras en macrófagos. La IL-10 también mejora la supervivencia de las células beta, la proliferación y la producción de anticuerpos. También se ha demostrado que inhibe la producción de citocinas proinflamatorias como el interferón -"y", IL-2, IL-3, factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa)⁽²⁰⁾ y el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (FSC-MG). Además, se han encontrado en células amnióticas otros mediadores antiinflamatorios como el antagonista del receptor IL-1 y los inhibidores tisulares de metaloproteinasas-1, 2, 3, 4 (TIMPs). El líquido amniótico contiene lisozimas e inmunoglobulinas. Los experimentos *in vitro* confirman la viabilidad reducida del *Streptococcus* del grupo A y del grupo B, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus saprophyticus* en presencia del amnios. Está demostrado que el amnios produce defensina beta-3 humana. Estos péptidos antimicrobianos están implicados en la resistencia de las superficies epiteliales a la colonización microbiana. Es posible inducir a las células epiteliales del amnios a expresar la molécula de adhesión intercelular 1 (MACI-1) mediante citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (FNT-alfa) y la IL-1B.⁽²¹⁾

- Promotor de la epitelización e inhibidor de la fibrosis y cicatrización. Las células amnióticas epiteliales y mesenquimales contienen factor de crecimiento epidérmico (FCE), factor de crecimiento de queratinocitos (FCK), factor de crecimiento de hepatocitos (FCH) y receptor del factor de crecimiento de hepatocitos (FCRH). Estos factores de crecimiento son responsables de la proliferación, migración y diferenciación de células epiteliales y la promoción de la epitelización. El bFGF es un factor proangiogénico y juega un papel en la formación de tejido de granulación mediante la proliferación de fibroblastos. El ácido hialurónico mesenquimatoso puede inhibir el factor de crecimiento tumoral fracción Beta (FCT-B), la fibrosis excesiva y las cicatrices. Esto puede explicar el efecto beneficioso que tiene el amnios sobre la formación de cicatrices y porqué la cicatrización de heridas fetales se produce sin cicatrices.⁽²²⁾

En cuanto a los métodos de conservación, tras la obtención de la MA a través de cesárea, existen varios métodos diferentes. A saber:

- A. Criopreservación. Después de lavar la MA con solución salina se corta en fragmentos de 9 cm², cada fragmento se pone en una membrana de nitrocelulosa en una caja Petri que contiene un medio RPMI 1640 con 17% de glicerol como conservante, luego se sellan las cajas Petri de forma estéril y se almacenan a -80 °C. Aunque durante el lavado se añaden antibióticos y antifúngicos, es posible que tras varios meses esté contaminada.⁽²³⁾
- B. Liofilización. Es una técnica de preservación que consiste en extraer el agua por un método de sublimación; por desecación al vacío, el producto se esteriliza usando radiación gamma con -60 cobalto. Se mantiene a temperatura ambiente y tiene baja probabilidad de contaminación, pero este método disminuye los factores de crecimiento y altera la arquitectura de la membrana.⁽²³⁾
- C. Láminas congeladas. En este proceso, el agua junto con el citoplasma son reemplazados por CPA (ácido alfa ciclopiazónico) a una temperatura de -80 °C; luego se lleva a congeladores de -150 °C o en nitrógeno líquido. También requiere equipamiento especial.
- D. Vitricación. Se usa directamente nitrógeno líquido. Este proceso requiere muchos aditivos (glicerol, CPA) y la constante manipulación puede ocasionar contaminación.

Aunque existen varios bancos de tejidos en Latinoamérica,⁽²⁴⁾ en Bolivia no contamos con ninguno (solo existe banco de huesos), ni disponemos de MA como producto farmacéutico. Por ello decidimos usar una forma más sencilla de almacenamiento que es la empleada en el presente estudio y que básicamente consiste en pre-

servar la MA en solución antibiótica de gentamicina a 5 °C por un tiempo no superior a 6 meses. En nuestra práctica y de forma rutinaria, descartamos las membranas que tienen más de 6 meses de almacenamiento. Además, la Ley de Transplantes N° 1716 con DS N°24671 de Bolivia es ambigua en relación a este tejido, por lo que nos regimos para el uso de MA por la norma de Europa que estipula la conservación de tejidos por un tiempo no superior a 6 meses.⁽²⁵⁾

Aún queda la segunda parte de nuestra investigación que consistirá en realizar cultivos de MA para obtención de células madre y determinar si existe alguna diferencia entre el tiempo de almacenamiento y el tiempo de uso.

Conclusiones

En nuestra experiencia y medio de trabajo, la MA humana es una alternativa extraordinaria como apósito biológico, ya que es de fácil obtención, tiene múltiples factores de crecimiento, diferentes tipos celulares con características de células madre y además, es de baja inmunidad. Su método de cosecha y su uso son fácilmente reproducibles.

La forma de almacenamiento que empleamos en nuestra serie de pacientes, en solución antibiótica de gentamicina conservada en frío (5°C), no requiere un banco especializado de tejidos y está disponible de forma inmediata. Solo precisa un centro médico que no necesita ser de tercer nivel (centro con especialidades y subespecialidades), y para un personal capacitado, la obtención y procesado son muy sencillas. Además, el uso de este material permite espaciar los intervalos de curaciones, lo que reduce la utilización de insumos.

En nuestra experiencia, la MA, en la forma en que la conservamos y aplicamos, ha logrado la reepitelización a los 7 días en todos los casos de heridas pequeñas y hasta en 1 mes en heridas de más de 10 cm.

Agradecimientos

Al Dr. Luis Kushner Dávalos, ginecólogo obstetra, por su participación en la obtención de las membranas. A la Dra. Alejandra de Alarcón y al Dr. Aldo Vacaflores por su ayuda con el análisis de las muestras enviadas a sus laboratorios.

Dirección del autor

Dra. Alejandra Peláez Flores
Correo electrónico: pelaezclaudiaa@gmail.com

1. **Momenni M, Fallah N, Bajouri A, et al**, A randomized, double-blind, phase clinical trial of fetal cell based skin substitutes on healing of donor sites in burn patients. *Burns* 2019;45(4):914-922.
2. **Caplan A.I.** Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *J. of Cel. Physiol.* 2007;213(2):341-347.
3. **Goodarzi P, Larijani B**, Mesenchymal stem cells derived exosomes for wound regeneration: Cell Biology and Translational Medicine. Springer Ed. 2018, Vol 4, Pp. 119-131
4. **Irapour S., Mahdavi-Shar iN.** Supportive properties of basement membrane layer of human amniotic membrane enable development of tissue engineering applications. *Cell And tissue Banking* 2018;19 (3) 357-361.
5. **Mamede, A.C., Carvalho, M.J., Abrantes, A.M., Laranjo, M., Maia, C.J., Botelho, M.F.** Amniotic Membrane: From Structure and Functions to Clinical Applications. *Cell Tissue Res.* 2012, 349, 447-458.
6. **Bourne G.** The microscopic anatomy of the human amnion and chorion. *Am J Obstet Gynecol* 1960;79:1070-1073.
7. **Schulze, U., Hampel, U., Sel, S., Goecke, T.W., Thäle, V., Garsreis, F., Paulsen, F.** Fresh and Cryopreserved Amniotic Membrane Secrete the Trefoil Factor Family Peptide 3 That Is Well Known to Promote Wound Healing. *Histochem. Cell Biol.* 2012, 138,243-250.
8. **Ruiz-Cañada, C., Bernabé-García, Á., Liarte, S., Rodríguez-Valiente, M., Nicolás, F.J.** Chronic Wound Healing by Amniotic Membrane: TGF- β and EGF Signaling Modulation in Re-Epithelialization. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2021, 9: 487.
9. **Quan-Wen Liu, Qi-Ming Huang et al.** Characteristics and Therapeutic Potential of Human Amnion-Derived Stem Cells. *Int. J. of Molecular Sci* 2021;22:970.
10. **Galaz J, Romero R, Slutsky Y, et al.** Celular immune responses in amniotic fluid of woman with preterm prelabor rupture of membranes. *J. of Perinatal Med.* 2020;48(3):222-233.
11. **Niknejad H., Peirovi H., Jorjani M., et al.** Properties of the amniotic membrane for potential use in tissue engineering. *Eur Cells Mater.* 2008;15:88-89.
12. **Davis JS.** Skin transplantation. With a review of 550 cases at the Johns Hopkins Hospital. *JHH Report* 1910;15:307-396.
13. **Gaviria-Castellanos J L, Gómez-Ortega V, Guerrero-Serrano L.** Manejo de quemaduras faciales de segundo grado con membrana amniótica preservada en glicerol 85%. *Cir.plást iberolatinoam.* 2018;44(4):401-408.
14. **Gaviria-Castellanos JL., Figueroa-Restrepo LG.** Uso de membrana amniótica en el tratamiento de la necrólisis epidérmica tóxica. Caso clínico. *Cir plást iberolatinoam.* 2022;48(2):199-206.
15. **Santamaría-Córdoba N, Cruz-Rubiano A, Báez-Flórez S.** Quemaduras del pabellón auricular: membrana amniótica frente a cura oclusiva para prevención de condritis. *Cir plást iberolatinoam.* 2023;249(3):301-308.
16. **Paolin A, Cogliatte E, Rojand T, et al.** Amniotic membranes in ophthalmology: long term data on transplantation outcome. *Cell Tissue Bank.* 2016;17(1):51-58.
17. **Keitel S.** Guide to Quality and safety of Tissues and Cells for Humana Application. European Directorate for Quality of Medicines and health care (EDQM);2019 www.edqm.edu/frepub
18. **Eskandarlao M., Azimi M., Rabiee S.** The healing effect of amniotic membrane in burn patients. *World J Plast Surg* 2016;5(1):39-44.
19. **Magatti M., Vertua.E.Parolini O.** The immunomodulatory properties of amniotic cells. The two sides of the coin. *Cell Transplant.*2018;26:70-74.

20. Hao Y, Ma DH, Hwang DG, Hwang DG, Kim WS, Zhang F. Identification of antiangiogenic and antiinflammatory proteins in human amniotic membrane. *Cornea* 2000;19:348e52.
21. Buhimschi IA, Jabr M, Buhimschi CS, et al. The novel antimicrobial peptide beta3-defensin is produced by the amnion: a possible role of the fetal membranes in innate immunity of the amniotic cavity. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:1678e87.
22. Lui Q., Huang Q, Wu han.Zuo G.,Deng Ke-Yu, Xin H. Characteristics and Therapeutic potencial of human Amnion – Derived Stem Cells.Int. *J. Mol.Sci* 2021;22:970.
23. Marin Leal S, Kern T, Hofmann N., et. al. Human Amniotic Membrane: A review on tissue engineering,aplication, and storage. *J. Biomed Mater Res.* 2021;109:119.
24. Guerrero Serrano L. Vigencia de los bancos de tejidos laminares. *Cir.plást iberolatinoam.* 2020;46(Supl. 1):23-30.
25. <https://eur-lex.europa.eu/ES/legal-content/summary/quality-and-safety-of-organs-intended-for-transplantation.html>.

Comentario al artículo “Experiencia con el uso de membrana amniótica, ¿qué hacemos si no tenemos un banco de tejidos”

Beatriz MANARO

Cirujano Plástico, Directora de UNIKER (Unidad del Niño Quemado, Cirugía Reparadora y Malformaciones), Centro Hospitalario Pereira Rossell, Montevideo, Uruguay.

Directora del Capítulo de Quemaduras de la Federación Ibero-latinoamericana de Cirugía Plástica (FILACP) 2024-2026

En primera instancia, destacamos que el trabajo de la Dra. Peláez está bien logrado y señala correctamente las propiedades del amnios, recurso accesible para todos los centros. Las propiedades beneficiosas de la membrana amniótica (MA) pueden compararse a las del plasma rico en plaquetas (PRP) y el uso de grasa autóloga, por lo cual deberían tenerse en cuenta como herramientas terapéuticas.

Me resultó interesante que los métodos de preservación que requieren mayor tecnología, como el caso de la liofilización que empleamos en nuestro país, pueden aumentar la seguridad en cuanto a la contaminación, pero podrían disminuir los beneficios al alterar la estructura de la membrana y disminuir los factores de crecimiento. Sería bueno contar con más estudios actualizados a este respecto, ya que en un intento por mejorar la seguridad microbiológica podríamos estar perdiendo propiedades beneficiosas. Sería importante que los bancos de tejidos de Latinoamérica cuantificaran la pérdida de propiedades de la MA según el método de tratamiento y preservación que use cada uno.

En nuestro país, la membrana se entrega irradiada y glicerolada, se conserva en frío a 5 °C y tiene duración de 2 años. No tiene un lado epitelial, sino que es igual en ambas caras, no requiere curación vaselinada y generalmente la dejamos al aire. Cuando se reseca mucho, en algunos casos, por ejemplo en cara, complementamos con ungüentos con antibiótico. En nuestra práctica no reemplazamos la membrana en ningún área salvo que tenga signos de contaminación o desprendimiento.

Me gustaría preguntar a la autora por qué sólo utilizan las MA obtenidas de cesáreas y por qué decidieron emplear en el Grupo 1 las membranas de hasta 3 semanas y en el Grupo 2 las más antiguas.

También quisiéramos preguntarle a qué se refiere cuando menciona al “banco local” en la discusión.

Entendemos según los resultados mostrados en su estudio que el método que describe y emplean es un método aceptable de conservación considerando los recursos disponibles, pero sería ideal que todos los países avanzaran en el camino de la ingeniería de tejidos de manera que esta llegue a ser accesible y segura de forma estandarizada para todos los centros.

Respuesta al comentario de la Dra. Manaro

Alejandra PELÁEZ FLORES

La MA, como sustituto, es invaluable, especialmente en nuestros países, donde existen zonas que apenas cuentan con centro sanitario, básicamente equipado y cuyo personal para la atención suele ser una enfermera y un médico, que a veces es el estudiante de Medicina del último año. En este contexto, el método de almacenamiento y luego aplicación de la MA que empleamos para la curación de las heridas, requeriría solamente la transmisión y socialización de este conocimiento en todas sus etapas.

En relación a las preguntas de la Dra. Manaro:

La obtención de MA solo en caso de cesárea se debe a las condiciones de asepsia que nos brinda el quirófano; la mayoría de las cesáreas son programadas y eso nos facilita la logística para la cosecha y envío a los laboratorios, en especial para este estudio. En la clínica donde trabajamos la sala de partos está alejada del área quirúrgica central y consideramos que puede llegar a contaminarse en cualquier momento.

La MA usada en el Grupo 1 de pacientes de nuestro estudio es de cosecha temprana porque estos pacientes presentaban más superficie con necesidad de cobertura; cuando la herida es menor de 30 cm podemos utilizar

membrana que estuvo más tiempo almacenada. Cabe considerar en relación a esta pregunta, que en la mayoría de casos en los que utilizamos MA para curación de una herida pequeña no la empleamos en su totalidad, sino que quedó una porción de menor tamaño que volvimos a almacenar y reutilizamos en el mismo paciente u otro, dependiendo de la cantidad de pacientes que estén siendo atendidos con este sustituto.

En el área quirúrgica de nuestra clínica contamos con un refrigerador para almacenar nuestras membranas recién cosechadas, y en algunas ocasiones la transportamos al consultorio de Cirugía Plástica para hacer las curaciones; a estos lugares los denominamos “banco local”

Para terminar, estoy de acuerdo en que el método presentado es sencillo y aceptable para ciertos lugares de trabajo; sin embargo, no podemos quedar indiferentes ante los avances en la ingeniería de tejidos que aportan más bioseguridad y que ponen a disposición cultivos celulares más especializados, pero a un costo quizás inalcanzable. Ojalá en un futuro próximo podamos escribir sobre estas nuevas experiencias y poder comparar nuestros resultados.

