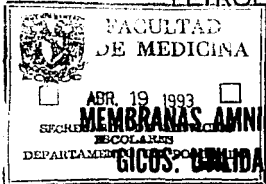


11211
220
2-90



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
HOSPITAL CENTRAL SUR DE
ALTA ESPECIALIDAD
PETROLEOS MEXICANOS**



MEMBRANAS AMNIOTICAS COMO APOSITOS BIOLÓGICOS. CALIDAD CLINICA DESPUES DE UN ALMACENAJE PROLONGADO

**TESIS DE POSTGRADO
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALISTA EN CIRUGIA
PLASTICA Y RECONSTRUCTIVA
P R E S E N T A
DR. JAVIER VILCHIS LICON**



MEXICO, D. F.

1993

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

- I. _ INTRODUCCION
- II.- ANTECEDENTES
- III.- JUSTIFICACION
- IV.- OBJETIVOS
- V.- HIPOTESIS
- VI.- METODOLOGIA
 - I.- DISEÑO EXPERIMENTAL
 - II.- CRITERIOS DE INCLUSION
 - III.- CRITERIOS DE EXCLUSION
 - IV.- CRITERIOS DE ELIMINACION
 - V.- UBICACION ESPACIO-TEMPORAL
 - VI.- DEFINICION DE VARIABLES
 - VII.- TECNICA Y PROCEDIMIENTOS
 - VIII.- DISEÑO ESTADISTICO
- VII.- RESULTADOS
- VIII.- DISCUSION
- IX.- CONCLUSIONES
- X.- ANEXOS, TABLAS Y GRAFICAS
- XI.- BIBLIOGRAFIA

I INTRODUCCION.

La utilización del fuego por el hombre ha significado sin lugar a dudas uno de los mayores descubrimientos para su desarrollo, creando posteriormente nuevas formas de energía, sin embargo de manera paralela junto con los beneficios que representó también cuenta con factores negativos los cuales pueden poner en peligro la integridad física, psicológica y social de los individuos y las poblaciones. Las quemaduras, lesiones a las que todos los individuos están constantemente expuestos, provocaran de acuerdo a la intensidad y al tiempo de exposición al agente causal, la destrucción total o parcial de la piel.

El común denominador de toda lesión causada por quemaduras independientemente de su etiología es la pérdida de la integridad de la piel. Es la interrupción de esta capa protectora, la que origina las complicaciones agudas y a largo plazo, que pueden desencadenar desde la pérdida de algunas funciones o hasta la muerte. Sus consecuencias incluyen severos trastornos metabólicos como la eliminación de líquidos, electrolitos y proteínas, pérdidas que se traducen en hipovolemia al inicio (3) y solo un poco después en desnutrición (4,41,42).

Cuando la piel pierde su aporte sanguíneo secundariamente a necrosis por coagulación, se torna en un cultivo adecuado para la proliferación de bacterias, aún administrándose los antibióticos específicos (5).

Las áreas cruentas, resultado de las quemaduras son muy dolorosas, situación que aumenta por el manejo y constante manipulación a que deben ser sometidos para su curación y desbridación con el fin de evitar la infección y propiciar ya sea la reepitelización en las quemaduras superficiales o un adecuado tejido de granulación en las profundas, para la aplicación posterior de un injerto cutáneo autólogo.

Se ha demostrado que las pruebas de adherencia, de reducción de la cuenta bacteriana de pérdidas por evaporación, resultan similares en los materiales biológicos, sintéticos y los autoinjertos (7,8,14).

II ANTECEDENTES.

Las heridas por quemaduras se caracterizan por distintos grados de deterioro celular después de la exposición a la energía térmica. Los mecanismos incluyen desnaturalización de proteínas celulares, inhibición del metabolismo celular e interferencia secundaria del riego local.

Los factores que determinan la expresión de la lesión son:

- 1.- La intensidad del calor al cual se exponen las células.
- 2.- La duración de la exposición.
- 3.- La conductancia del tejido afectado.

CLASIFICACION DE LAS QUEMADURAS.

Farby (2) en 1964 propuso una de las primeras clasificaciones de las quemaduras sin hacer referencia a la profundidad. Se basó en la intensidad de la quemadura superficial juzgada únicamente por su aspecto externo; en la actualidad se diferencian en lesiones de primero, segundo, tercero y algunos hasta de cuarto grado. No siempre el diagnóstico de precisión es factible en el momento de la lesión o algunos días después; esta clasificación es retrospectiva en muchos aspectos. Si la piel cicatriza por desprendimiento, sin ampollas, se dice que es de primer grado; si se forman vesículas y la herida cicatriza por reepitelización se considera de segundo grado; una herida por quemadura que no cicatriza por regeneración del epitelio desde la base de la herida, se supone como pérdida del espesor total de la piel y se le denomina de tercer grado. Algunos autores consideran a las de cuarto grado a aquellas en la que se descubre una afección muscular o de otros tejidos mas profundos a la piel una vez que se retira esta. De manera simultanea se utiliza también una clasificación mas funcional y descriptiva que permite una descripción mas precisa de la quemadura:

Quemaduras Superficiales. Estas heridas resultan de la exposición prolongada a calor de intensidad baja. El resultado es un eritema de la piel, con edema limitado a las capas basales. Hay irritación de las terminaciones nerviosas libres por lo que existe mucho dolor, en algunos casos hay muerte celular a nivel del estrato granuloso lo que origina descamación después de 3 o 4 días de la quemadura, el ejemplo clásico es la quemadura solar. Las heridas cicatrizan con rapidéz sin dejar huellas de cicatrización.

Quemaduras de espesor parcial. Estas a su véz se subdividen en superficiales y profundas. Una quemadura de espesor parcial superficial equivale a la de II grado clásico con vesículas. Estas lesiones resultan de una exposición por mas tiempo o a una chispa de mayor intensidad, e implican mayor destrucción celular que en una quemadura superficial simple. La capa basal de la piel es la línea de demarcación entre las lesiones superficiales y profundas. En las superficiales no se destruye la totalidad de la capa basal de la piel, el eritema es una característica notable, sin embargo la formación de vesículas es el dato que mas destaca, hay destrucción celular de los estratos granuloso y corneo que forman el recubrimiento de estas vesículas. La respuesta vascular de los plexos subpapilares dentro de la dermis origina la formación de edema en la unión dermo-epidérmica. A medida que se acumula el líquido, se separa la unión formando la vesícula. La epidermis puede tornarse tumefacta y edematosa. Se irritan las terminaciones nerviosas libres, son muy dolorosas.

La membrana de la vesícula intacta forma un medio esteril que evita la pérdida excesiva de líquidos por la herida. Fallon y Moyer (19) demostraron que quitando simplemente el estrato corneo había una pérdida acelerada y sensible de agua 10 a 20 veces mayor que en la piel normal. La escara seca permite la pérdida de agua 75 veces mas rápido que la piel normal y de ahí su aspecto seco. Ya que la capa basal permanece en gran parte intacta, las quemaduras superficiales de espesor parcial curan sin dejar cicatríz entre los 10 y 14 días después de la quemadura.

Las quemaduras de espesor parcial profundo son lesiones con alteración total de la epidermis y destrucción de la mayor parte de la capa basal. Si respeta los apéndices dérmicos como los folículos pilosos y las glándulas sudoríparas, la herida puede regenerar y es en consecuencia de espesor parcial. Los fenómenos que ocurren en el plexo subpapilar caracterizan las principales alteraciones histológicas de esta lesión. El líquido de edema infiltra la unión dermoepidérmica, hay necrosis isquémica (coagulación) de la epidermis, seguida de una respuesta celular inflamatoria incitada a nivel basilar que origina mayor destrucción tisular, puede haber vesículas; sin embargo no es un componente esencial; la herida se caracteriza con mayor frecuencia por la formación de una escara.

En este tipo de quemaduras la sensación está muy disminuida por la destrucción real de las terminaciones libres en la capa basal de la piel y cuando se alteran las capas más profundas la cicatrización de la herida es más prolongada formándose escaras.

Quemaduras de espesor total. Basándose en el trabajo de Order y Moncrief (2), es posible dividir las diferencias entre las quemaduras de espesor parcial profundas y las de espesor total en 5 características: 1.- Vascularidad. En la quemadura parcial profunda nunca hay isquemia por completo, mientras que en la de espesor total hay oclusión arterial. 2.- Inflamación celular dérmica: en la parcial profunda, está presente; en la de espesor total se encuentra ausente. 3.- Revascularización: en la parcial profunda la permeabilidad arterial se encuentra restablecida una semana después de la quemadura y en la de espesor total hasta 3 semanas después de la quemadura hay tejido neovascular de granulación. 4.- Tejido de granulación: en la parcial profunda se encuentra en la dermis y en la de espesor total en la fascia y 5.- La cicatrización está dada por crecimiento epitelial en las quemadu-

ras parciales profundas, mientras que en las de espesor total hay separación de la escara, no hay crecimiento epitelial, se requiere un autoinjerto. De tal manera que es obvio que en las de espesor total se destruye la epidermis junto con los apéndices cutáneos y estructuras de apoyo.

La herida se caracteriza por necrosis por coagulación y solo hay edema e infiltrados celulares en sus bordes. Al igual que en las quemaduras de espesor parcial profundas, se forma una escara gruesa que permite pérdidas copiosas de líquidos y no evita la invasión bacteriana y la sépsis de la herida. Hay granulación tisular que consiste en nuevos fibroblastos y tejido endotelial como resultado de una respuesta inflamatoria en el borde de la herida. La escara se torna laxa y finalmente se esfacela, por falta de apéndices de la piel la herida cicatrizará por contracción y crecimiento epitelial desde los bordes de la herida.

En casi todas las heridas de este tipo de cualquier tamaño los resultados de esta cicatrización natural son la deformación por contractura y cicatriz inestable.

En la práctica clínica se aplican autoinjertos cutáneos para sellar la herida y acelerar el proceso de cicatrización.

Quemaduras de IV grado. Las lesiones por incineración grave representan las heridas de espesor total extremas en las que la lesión se extiende más allá de la piel. Hay necrosis por coagulación de los tejidos y no hay inflamación celular excepto en la periferia.

MEMBRANAS AMNIOTICAS

ANTECEDENTES HISTORICOS

Muchas investigaciones se han publicado acerca de los beneficios que representa la utilización de las membranas amnióticas. Hace casi un siglo, Pollock utilizó el primer homoinjerto en un paciente con quemaduras (19). En los estados Unidos, 10 años mas tarde Lee intenta la aplicación del primer heteroinjerto en pacientes con quemaduras (5). Mas tarde Ivvanova sugirió que la piel fetal podría tener alguna ventaja sobre la piel del adulto basandose en que la piel de los infantes poseía mas "vitalidad energética".

En 1910 John S. Davis reportó la aplicación de pequeñas porciones tomadas del saco amniótico sobre areas cruentas (5). Nicolas Sabella en 1912 trata por primera vez a un paciente con quemaduras con membranas amnióticas (5). El objetivo primordial de estos primeros intentos fué el de substituir la piel humana y obtener una continuidad epitelial proviendo una cubierta permanente. Sin embargo el mismo Davis en 1919 estableció que si estos substitutos eran colocados sobre areas cruentas desencadenaban en un periodo variable el fenomeno de rechazo, motivo por el cual se desechó su uso.

No hay constancia bibliográfica acerca de la utilización de las membranas amnióticas hasta 1935 y mas tarde en 1937 en que Brindeau y Burger respectivamente reportan el uso del amnios como injerto para formar una vagina artificial (44). Tres años mas tarde para defectos conjuntivales, De Roth reporta su utilización con éxito (44). En ese mismo año Chao y cols introducen el término amnioplastina y la utilizan para prevenir adherencias meningocerebrales en lesiones de cabeza, reportando que esta degenera en substancia mucicoide y desaparece en 30 días (44). En 1942 Pikin reporta la amnioplastina en la literatura rusa (44). Entre los años

de 1941 y 1948 Kubanyi utiliza amnios en pacientes con áreas cruentas por quemaduras y heridas (44). En 1953 Brown y Douglas y -- otros autores describen microscópicamente el corion y el amnios, e introducen el concepto de apósitos biológicos (4,41,16,23,28,18). En 1962 Massee y col utilizan las membranas amnióticas para la reconstrucción del piso pélvico después de su exéresis en perros (44, 45). Dino y col en 1966 proponen un método de conservación y las ventajas prácticas de establecer un banco de membranas amnióticas (17). En 1972 Trelford y col reportan sus estudios preliminares como apósitos biológicos y su uso en heridas de espesor parcial - (44). En 1975 Robson, Krisek y Trelford y Col unen sus experiencias y recomiendan la utilización de las membranas amnióticas, enfatizando los beneficios de estas, recalcando su fácil obtención, y los efectos resultantes sobre la flora bacteriana, la predicción de la supervivencia de los autoinjertos y sus ventajas en relación con la utilización de otro tipo de apósitos temporales (33,35,45).

Más recientemente Colocho, W.C. Quimby y col y otros llevan a cabo múltiples estudios acerca de las membranas amnióticas y corroboran dichos beneficios, proponiéndolas como el mejor apósito biológico (14,23,26,28,32,43,47,48).

LA MEMBRANA AMNIOTICA.

El mesénquima amniótico es derivado del mesodermo extraembriónico primario del blastocisto y es formado por delimitación de la superficie del trofoblasto. Para el segundo mes de gestación, - las células mesenquimatosas son separadas del epitelio por una capa de tejido que contiene moderada cantidad de fibras de colágena. Las membranas fetales finales consisten de una sola capa de ectodermo firmemente ligada a colágena mesenquimal de 6 a 8 células de espesor y fijadas al corion (16,23,44).

Histología.

El microscópio de luz revela una sola capa de células cuboides, semejantes a las células de la epidermis en una base matriz colágena. Las células del amnios varían en longitud desde un epitelio columnar al cuboide aplanado. El espesor de la capa mesenquima o celular es de aproximadamente 0.05 mm y la del corion en promedio es de 0,04 a 0.12 mm (16,25,44).

Inmunología.

El amnios (sin el córion) puede ser un autoinjerto para el recién nacido y en otros huéspedes funciona como un aloinjerto, ya que la antigenicidad del amnios parece estar disminuida y una respuesta violenta del huésped no ha sido demostrada. El córion cuando se coloca en el huésped provoca neovascularización y migración de células del huésped causando el clásico fenómeno de rechazo. Este tejido ha sido recientemente estudiado y se establece que presenta considerable antigenicidad que provoca una fuerte respuesta celular antigénica. Algunos investigadores localizan a los antígenos en el trofoblasto. Si el córion es separado del amnios y el lado mesenquimatoso es colocado al huésped, una menor reacción es observada (23,28,35,43).

Características físicas.

Machland, utilizando membranas fetales intactas encontró presión de estallido de la membrana amniótica de 393 mm Hg con un máximo de 900 mmHg. Se encontró una fuerza tensil de 0.05 y 0.45 Kg/cm. Se encontró además que el córion es más débil que el amnios debido a que este último posee más colágena. Es posible que en vivo la membrana amniótica mantenga un fino balance entre fuerzas hidrostáticas y osmóticas controlando el movimiento de los fluidos. Los lípidos han sido identificados en el córion pero no en el amnios, al parecer siendo influenciados por los lípidos maternos contenidos en la dieta.

Inducciones experimentales recientes han revelado que el amniós humano es capaz de inducir la formación de células epiteliales en la membrana corio-alantoidea de huevos de gallina fertilizados. Estos experimentos recientes, abren un nuevo camino a la investigación en tejidos (23,28,43,44).

Aplicaciones clínicas.

La membrana amniótica es considerada como apósito biológico exponiéndose a continuación los posibles beneficios temporales de los apósitos biológicos en general.

Beneficios metabólicos.- Reduce la evaporación del agua y calorías gastadas. Reduce el trasudado, la pérdida de electrolitos y proteínas.

Cambios bacterianos.- Con cambios frecuentes de las membranas se reduce la cuenta bacteriana de 10^5 bacterias por gramo de tejido. También reduce las posibilidades de contaminación extrínseca.

Beneficios en la cicatrización.- Reduce la inflamación asociada a una herida abierta. Reduce la contracción de la herida.

Beneficios clínicos.- Reduce la intensidad del dolor al proteger las terminaciones nerviosas expuestas en una herida, reduce el tiempo necesario para preparar un área para la colocación de un injerto definitivo; reduce cambios por pérdidas de injertos al tiempo de injertado definitivo.

Otros beneficios.- Reduce el tiempo de hospitalización, reduciendo también el costo de la misma, reduce la morbilidad y la mortalidad. Los resultados son iguales o superiores a los de la piel porcina y ligeramente menores a los de la piel de cadáveres (25,48).

La obtención y preparación de las membranas amnióticas debe realizarse bajo condiciones asépticas, su utilidad se limita a los 21 días posteriores a su obtención, siempre y cuando se mantengan en refrigeración a 4 grados centígrados y con antibióticos (9,26,28,32,43).

Las membranas amnióticas presentan casi todas las características de la piel humana y se les ubica dentro del grupo de los aloinjertos u homoinjertos. Son tejidos vivos que si se almacenan en forma adecuada sus condiciones de viabilidad se podrán prolongar de 3 a 6 semanas (43). Se enfatiza su uso temporal, ya que en ningún momento se integraran de manera definitiva y permanente al huésped, debido a la especificidad de los antígenos de histocompatibilidad tratándose del córión, el cual por su conexión vascular con el lecho receptor, desencadenará en un periodo variable el fenómeno de rechazo (10).

III JUSTIFICACION

En una unidad de quemados, como lo es la del Hospital Central Sur de Alta Especialidad de PEMEX, en que la afluencia de pacientes con este tipo de problemas es alta e impredecible, se requiere tener un banco de tejidos o una cantidad suficiente de apósitos sintéticos para afrontar este requerimiento; el Hospital - Central Sur de PEMEX no cuenta con dicho banco de tejidos por la dificultad que esto implica, tampoco cuenta con una cantidad suficiente de apósitos sintéticos o biológicos por su elevado costo, por lo que se decidió utilizar otros materiales que cumplieren con esta función.

Las membranas amnióticas, como substituto temporal de la piel en quemaduras y/o areas cruentas han demostrado ser el apósito biológico que mas se adapta a nuestro medio por la facilidad para su obtención y preparación y su bajo costo en comparación con otros apósitos biológicos o sintéticos (9,14,17,32).

El proceso de procuración y elaboración de las membranas amnióticas para que puedan ser utilizadas como apósitos biológicos con seguridad es de por lo menos de 3 días, tiempo en que el laboratorio envia el reporte de los cultivos desarrollados de la muestra tomada durante la preparación de las membranas amnióticas que indicaran en el caso de ser negativos que pueden ser utilizadas sin riesgo para el paciente, por tal motivo es necesario contar con un banco de membranas amnióticas para que puedan ser utilizadas en el momento que se requieran.

Existe controversia en el tiempo máximo que pueden ser almacenadas las membranas amnióticas ya que algunos autores (32), lo reportan de 3 semanas, mientras que otros (9, 23,) de seis; en vista de tal controversia con respecto a la utilidad clínica de las membranas amnióticas después de un tiempo variable de estar almacenadas, y por la necesidad de contar con un banco de estos tejidos con un número considerable de estos, aunado a la poca

disponibilidad de estas membranas amnióticas por el relativamente bajo número de partos en este hospital, se propuso este estudio para determinar el tiempo máximo que pueden durar las membranas amnióticas y que conserven sus propiedades como apósitos biológicos, sentando las bases para la formación de un banco de membranas amnióticas.

IV OBJETIVOS

- I.- Establecer cuales el tiempo máximo durante el cual pueden las membranas amnióticas mantenerse almacenadas, conservando sus propiedades como apósitos biológicos.

- II.- Verificar la utilidad clínica de las membranas amnióticas como apósitos biológicos cuando estas han sido almacenadas en refrigeración por un tiempo mayor de 6 semanas.

V HIPOTESIS

Las Membranas Amnióticas han sido utilizadas como Apósitos Biológicos con efectividad cuando han sido conservadas en refrigeración por un tiempo máximo de 6 semanas, tiempo en que pierden la viabilidad celular.

HIPOTESIS.

Las Membranas Amnióticas conservaran sus características como Apósitos Biológicos después de haber sido almacenadas en refrigeración por un tiempo superior a las 6 semanas a pesar de haber perdido la viabilidad celular.

VI METODOLOGIA.

I.- Diseño Experimental.

Se realizó un estudio **prospectivo, longitudinal, comparativo y experimental.**

II.- Criterios de Inclusión.

Para pacientes. Pacientes del servicio de Cirugía Reconstructiva del Hospital Central Sur de Alta Especialidad de PEMEX (H.C.S.A.E.), con pérdidas cutaneas parciales que incluyan la epidermis y la mayor parte de la capa basal de la dermis (quemaduras de II grado) o la totalidad de esta (quemaduras de III grado) o similares.

Para membranas amnióticas. Membranas amnióticas obtenidas de placentas de mujeres que den a luz en el H.C.S.A.E., las placentas obtenidas de mujeres sanas, seronegativas para VIH, hepatitis, y/o sífilis, sin enfermedades infecto-contagiosas agudas o crónicas en el momento del parto, obtenidas con técnica aséptica.

III.- Criterios de exclusión.

Para pacientes. Pacientes que por su patología de base no se consideraron conveniente cubrir las heridas con apósitos biológicos, los que tuvieran patología asociada que impidiera la aplicación de las membranas amnióticas.

Para membranas amnióticas. Membranas amnióticas de mujeres que cursaron con ruptura prematura de membranas de mas de 8 hrs de evolución, las de partos y alumbramientos dados en condiciones sépticas, las que fueron preparadas después de 8 hrs de ha

ber ocurrido el alumbramiento y todas aquellas con datos macroscópicos de sépsis.

IV.- Criterios de eliminación.

Para pacientes. Pacientes en los que antes de haber podido comprobar las cualidades de las membranas amnióticas como apósitos biológicos se retiraron para realizar otro tipo de tratamiento.

Para membranas amnióticas. Membranas amnióticas con 2 reportes de cultivos positivo consecutivos, y los que una vez reportados como negativos se hayan positivizado antes de su utilización clínica.

V.- Ubicación espacio-temporal.

Se estudiaron las membranas amnióticas obtenidas de placentas alumbradas en el H.C.S.A.E. en el periodo comprendido entre el 3 de enero de 1991 y el 4 de enero de 1993.

VI.- Definición de variables.

Las variables a analizar fueron las propiedades de las membranas amnióticas como apósitos biológicos como: la disminución de la cantidad de exudado valorándose subjetivamente la cantidad antes y después de la aplicación de las membranas amnióticas, las características de la superficie, húmeda o seca, la disminución del dolor en escala de ausente, leve, moderado y severo. Todo esto según el tiempo que hayan permanecido almacenadas las membranas amnióticas, comparandolas entre sí y con membranas amnióticas testigo (con tiempo de almacenamiento menor a las 6 semanas).

VII.- Técnicas y procedimientos.

Las placentas obtenidas y que reunieron los criterios de inclusión, fueron enviadas al servicio de cirugía reconstructiva

y bajo las mismas condiciones de asepsia fueron preparadas en todos los casos por los médicos residentes de la especialidad con la misma técnica.

Técnica. El procedimiento con estricta técnica estéril, se tomó una muestra para cultivo con medio de transporte en el momento de la separación de las membranas amnióticas del resto de los tejidos placentarios, lavado mecánico gentil con abundante agua estéril hasta eliminar en su totalidad coagulos y la gelatina de Warthon (glucoproteína), se almacenaron en frascos de vidrio con tapa con 100 cc de solución salina isotónica y 80 mg de gentamicina con la finalidad de impregnar la membrana amniótica del antibiótico. Todas las membranas se almacenaron en refrigeración a una temperatura entre los 3 y 5 grados centígrados por diferentes periodos que variaron desde las 6 hasta las 104 semanas. Se realizó cambio de la solución con gentamicina y toma de cultivos de manera periódica cada 3 semanas. Todos los cultivos fueron procesados en el laboratorio central del H.C.S.A.E. Finalmente antes de su utilización clínica se envió una muestra de las membranas a Patología para su evaluación histopatológica.

La utilidad clínica se verificó en pacientes con áreas - cruentas por quemaduras de diferentes grados de profundidad. Los pacientes fueron sometidos a aseo quirúrgico de la zona lesionada con agua y jabón, enjuagandose con abundante agua estéril posteriormente. Se colocaron las membranas amnióticas en las lesiones para mantener aislada la región del medio ambiente, favorecer la vascularidad de la herida y la epitelización en las quemaduras menos profundas y proveer al área receptora de un lecho adecuado para su injerto en caso necesario. Dependiendo del tamaño de la herida fué el número de membranas utilizadas, siempre - una control y cuando menos 4 del grupo prueba, se comparó la evolución de la herida en cada sitio donde se había colocado una membrana diferente, se tomó registro fotográfico de la evolución de las heridas.

Procedimiento. Las membranas obtenidas de mujeres sanas seronegativas para HIV, sífilis y hepatitis, que dieron a luz en el H.C.S.A.E. que no cursaron con ruptura prematura de membranas de mas de 8 hrs o amniocitis, fueron preparadas con técnica estéril, se tomaron cultivos y se mantuvieron almacenadas en refrigeración en solución salina isotónica con 80 mg de gentamicina - por periodos de tiempo variables, según la tabla I, periódicamente se realizó el cambio de solución con antibiótico y se tomaron cultivos resultando siempre estos negativos. Antes de su utilización clínica se envió una muestra tomada al azar de 8 de las 40 - membranas amnióticas para su estudio histopatológico.

La fase clínica se realizó al aplicar sobre lesiones por quemaduras, varios fragmentos (según el tamaño de la lesión) de diferentes membranas amnióticas conservadas por tiempos variables que fueron desde una hasta las 104 semanas, se mapeó la colocación; con este procedimiento se aseguró las mismas condiciones para todas las membranas amnióticas aplicadas a cada paciente.

Se tomó registro fotográfico del area cruenta antes de la aplicación de las membranas, durante su aplicación y en los días subsiguientes, valorandose la evolución de la lesión.

Se valoró si con la aplicación de las membranas amnióticas el dolor desaparecía, disminuía, continuaba o se incrementaba, se compararon la intensidad en cada area en relación con las demás incluyendo donde se aplicó la membrana amniótica control. También se valoró el estado de la superficie del area cruenta una vez colocados los fragmentos de membranas, siendo los parametros de evaluación si se mantenía húmeda o seca. De la misma manera se determinó la presencia o ausencia de exudado en el area donde se aplicaron las membranas; la epitelización, si se llevaba a cabo de manera normal o retrazada, finalmente también fueron valoradas las características macroscópicas de la cicatrización y en que condiciones se llevaba a cabo esta, de una manera meramente subjetiva.

VIII.- Diseño estadístico.

La distribución de los fragmentos aplicados fué de manera aleatoria.

Para la distribución de las membranas se hicieron dos grupos, uno para prueba y uno para control, el primero dividido a su vez en 4 subgrupos conteniendo 8 membranas amnióticas cada uno y el grupo control también con 8 membranas.

En el grupo prueba se colocaron las membranas almacenadas por un tiempo superior a las 6 semanas y hasta las 104, en el grupo control, membranas almacenadas de una a 6 semanas.

Los resultados obtenidos fueron verificados con la prueba de Chi cuadrada.

VII RESULTADOS

Se obtubieron 40 membranas amnióticas, 32 del grupo prueba y 8 del grupo control, distribuidos en 5 grupos, según la tabla I, los cultivos tomados trisemanalmente fueron siempre negativos para bacterias y hongos; el Departamento de Patología reporto de las muestras enviadas a evaluación histopatológica: membranas amnióticas sin alteración. El único cambio (semicuantitativo) es la pérdida de los núcleos en razón proporcional al tiempo de almacenamiento (anexo I). La utilidad clínica se verificó en 8 pacientes admitidos en el servicio de Cirugía reconstructiva del mismo H.C.S.A.E. con areas cruentas por quemaduras, 5 en periodo agudo y 3 en crónico; al primer paciente se le aplicaron 16 membranas del grupo prueba y una del grupo control, al segundo 23 y 1, al tercero 22 y 1, al cuarto 17 y 1, al quinto 11 y 1, al sexto 16 y 1, al séptimo 7 y 1, y al octavo 12 y 1, se comparó el comportamiento de estas sobre el area quemada.

El control del dolor (tabla II) se hizo patente que tanto las membranas amnióticas frescas (las del grupo control) como las del grupo prueba lo disminuyeron en un 25% y desapareció en el 75 % restante, no habiendo significancia estadística entre los 2 grupos, determinada por una p de 0.79. (gráfica I).

Otro parametro valorado fué el estado de la superficie de la quemadura una vez colocadas las membranas amnióticas, se observó que tanto las membranas frescas como las almacenadas por un tiempo superior a las 6 semanas se comportan igual, se corroboró p medio de la prueba de Chi cuadrada con una p no significativa (tabla II, gráfica II).

La presencia de exudado unicamente se documentó en un paciente, presentandose de igual magnitud en el area cubierta por la membrana fresca como por las membranas del grupo prueba, tambien con una p no significativa (tabla II, gráfica III).

Al analizar la epitelización se observó en 3 pacientes - que esta no se llevó a cabo por presentar pérdida total de la capa basal de la dermis; tampoco en este rubro hubo significancia estadística en el comportamiento de los grupos prueba y control (tabla II, gráfica IV).

Finalmente las características macroscópicas de las cicatrices resultantes de las areas cruentas, después de la epitelización de las quemaduras de II grado superficial y algunas de II - grado profundo y de la integración de los injertos colocados en - las quemaduras de II grado profundo restantes y de III grado fueron normales en ambos grupos (tabla II, gráfica V).

Es importante mencionar que un paciente que se internó con diagnóstico de quemaduras de II y III grado en el 60% de la superficie corporal total, con 4 días de evolución, se le detectó -- E. cloacae desde su ingreso, fué el único paciente en que la superficie se manifestó húmeda, con presencia de exudado y que refirió dolor a pesar de la aplicación de las membranas amnióticas.

VIII DISCUSION

En las investigaciones sobre el cierre de areas cruentas en forma temporal, se ha recurrido a diferentes medios para resolver el problema de la pérdida de la cubierta cutánea, que significa un verdadero problema con respecto a la respuesta metabólica al trauma, la pérdida de la barrera protectora contra germenés, - el control del dolor, etc.

Varios autores (7, 10,13,14,18,20,27,28,29,32,33,35,36,37, 43,44,47,48) han comparado sus resultados con diferentes materiales sintéticos y biológicos, habiendo utilizado piel humana de cadaveres como aloinjertos, no siendo del todo prácticos por las implicaciones legales, problemas de infección, mal estado de la piel y sobre todo la poca disponibilidad de cadáveres a los cuales tomarles la piel; los xenoinjertos de piel de cerdo que por - su costo son poco accesibles (33), aunado a su poca disponibilidad en el mercado nacional y que sus cualidades no son superiores a las de las membranas amnióticas (40). La piel sintética también es muy cara y al igual que los xenoinjertos de piel de cerdo poco disponibles en México y sus cualidades no son mejores que las de las membranas amnióticas (12,13,33,37,48).

Debido a la facilidad para la obtención de las membranas amnióticas, su mínimo costo y disponibilidad, se ha podido establecer que su uso en los servicios de quemados (29) son el mejor apó sito temporal para mejorar las condiciones locales y generales en el paciente quemado (y en general con areas cruentas), se pueden resumir sus beneficios en:

Beneficios Clínicos.

El efecto anestésico de las membranas amnióticas radica

en que al cubrir al area cruenta, se protegen las terminaciones nerviosas libres (7, 32), además ayuda disminuyendo el trauma psicológico facilitando la cooperación del paciente. Así mismo disminuye el tiempo y el número de curaciones, proporcionando un lecho receptor adecuado (17,27), mientras tanto permite al paciente iniciar su rehabilitación al poderse mover libremente, sobre todo las extremidades (28).

El beneficio sobre la epitelización de las quemaduras de II grado superficial esta dado por la barrera protectora que formará el amnios, evitando que se profundicen (13), y esperando que en el término de 14 días en promedio esta quemadura haya epitelizado a partir de los apéndices cutaneos (folículos pilosos, glándulas sudoríparas y sebáceas), através de migración de tejido epitelial y diferenciación del mismo; también ayuda a preparar las areas cruentas de tal forma que se encuentren en condiciones óptimas para recibir un injerto autólogo (19,27,33,40).

Beneficios antibacterianos.

Por el efecto simple de barrera reduce la contaminación y la infección de las heridas. Al parecer tambien existen cambios enzimáticos en el lecho del area cruenta por lo cual se inhibe el crecimiento bacteriano (30), sin embargo hasta la fecha este evento no ha quedado muy claro.

De la misma manera también se le ha atribuido a la alantoina y a la urea excretada el efecto antibacteriano (11); otra posibilidad es la lisozima que es una protefina bacteriolítica de bajo peso molecular la cual está presente en el tejido amniótico (16,23).

Otra hipótesis propuesta, por la cual decrece la cuenta bacteriana bajo las membranas amnióticas descansa en el efecto biológico que sobre la herida efectúa la membrana, restaurando la función circulatoria y permitiendo una llegada más rápida

de fagocitos y factores bacteriolíticos que aceleran la remoción del tejido necrótico (25,30,35,39)

Beneficios metabólicos.

A manera de barrera mecánica reduce la pérdida de agua al evaporarse por la herida, también se reduce el gasto calórico de alrededor de 750 cal por cada litro de agua perdida, e --- importante reducción en pérdida de electrolitos y proteínas - plasmáticas principalmente albúmina (11,28,29,30,32,41,44).

Otros beneficios.

Otra ventaja es la acción antiinflamatoria y el coadyuvar a una hidratación adecuada de la lesión (32).

Reduce la morbimortalidad, el costo y el tiempo de hospitalización, así como el desvío de recursos materiales y humanos.

IX. CONCLUSIONES.

Las membranas amnióticas almacenadas hasta por 2 años conservan sus propiedades como apósitos biológicos a pesar de haber perdido la viabilidad celular, comportandose de manera semejante a las que tienen menos de 6 semanas.

Ahora se cuenta con suficientes elementos para formar un banco de membranas amnióticas y poder enfrentar cualquier demanda de estos productos por grande que sea.

Con la formación de un banco de membranas amnióticas los pacientes se verán ampliamente beneficiados al ser su evolución mas favorable, también la institución se verá beneficiada al contar con apósitos biológicos baratos y seguros; al disminuir la morbilidad y los días cama por paciente, permitiendo una rehabilitación mas temprana a los pacientes y disminuyendo el tiempo de incapacidad de sus trabajadores.

X ANEXOS

TABLAS Y

GRAFICAS

PETROLEOS MEXICANOS

SERVICIO MEDICO

INFORME ANATOMOPATOLOGICO

Nombre: MEMBRANAS AMNIOTICAS

Expediente número: Q93-04 Ficha: _____ Como: _____

Fecha: 4 DE ENERO DE 1993

Médico tratante: DR. VILCHIS

Pieza remitida: MEMBRANAS AMNIOTICAS

Diagnóstico clínico: MEMBRANAS AMNIOTICAS

DESC. MACROSCOPICA:

Se reciben 8 tubos de ensayo con muestra de tejido etiquetadas como membranas amnióticas. Se incluyen íntegramente de la siguiente manera. Con los números 4 Cápsula A 8 cápsula B 12 cápsula C 16 cápsula D 20 cápsula E 24 cápsula F 28 cápsula G y 31 cápsula H. JMD.

DIAGNOSTICO:

Membranas amnióticas sin alteraciones.

NOTA:

El único cambio (semicuantitativo) es la pérdida de núcleos en razón proporcional al tiempo.

DR. OSCAR LARRAZA HERNANDEZ

TABLA I

MEMBRANAS AMNIOTICAS
SEMANAS DE ALMACENAMIENTO

GRUPO	No. DE MEMBRANAS	SEMANAS DE ALMACENAMIENTO
I	8	79 A 104
II	8	53 A 78
III	8	28 A 52
IV	8	7 A 27
V (CONTROL)	8	0 A 6

TABLA II

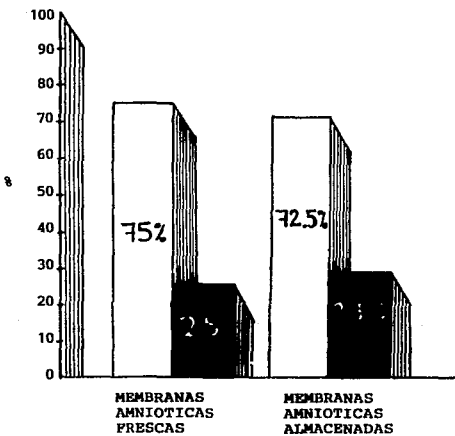
COMPORTAMIENTO CLINICO DE LAS MEMBRANAS AMNIOTICAS ALMACENADAS
EN RELACION CON LAS MEMBRANAS AMNIOTICAS FRESCAS

PARAMETRO CLINICO	MEMBRANAS FRESCAS		MEMBRANAS ALMACENADAS		P
CONTROL DEL DOLOR	SI 6	NO 2	SI 90	NO 34	0.79 P N.S.
EDO. DE LA SUPERFICIE	SECA 7	HUMEDA 1	SECA 101	HUMEDA 23	0.96 P N.S.
PRESENCIA DE EXUDADO	NO 7	SI 1	NO 101	SI 23	0.96 P N.S.
EPITELIZACION	NORMAL 5	AUSENTE 3	NORMAL 74	AUSENTE 50	0.83 P N.S.
CICATRIZACION	NORMAL 8		NORMAL 124		

ESTA TESIS NO ESTÁ EN LA BIBLIOTECA DE LA SALUD DE LA

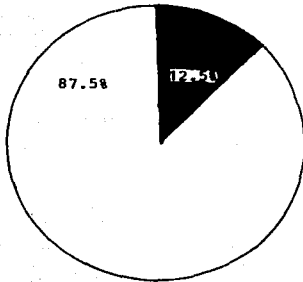
GRAFICA I

CONTROL DEL DOLOR



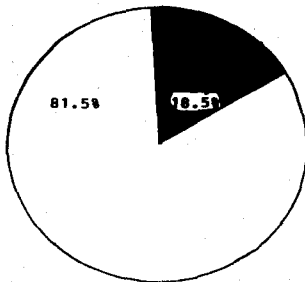
GRAFICA II

ESTADO DE LA SUPERFICIE
MEMBRANAS AMNIOTICAS FRESCAS



SECA	7
HUMEDA	1
TOTAL	8

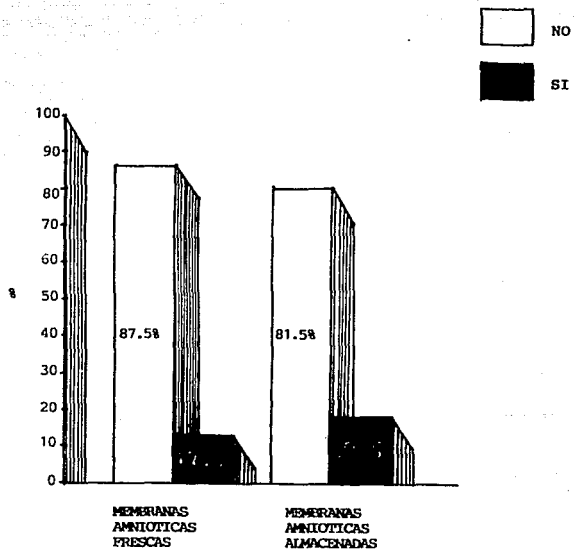
MEMBRANAS AMNIOTICAS ALMACENADAS



SECA	101
HUMEDA	23
TOTAL	124

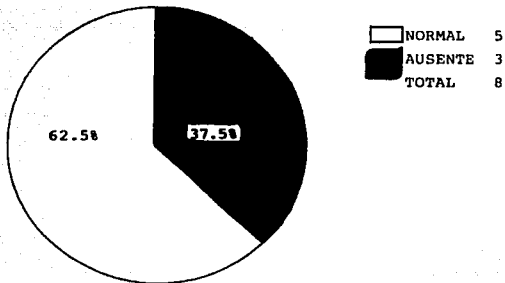
GRAFICA III

PRESENCIA DE EXUDADO

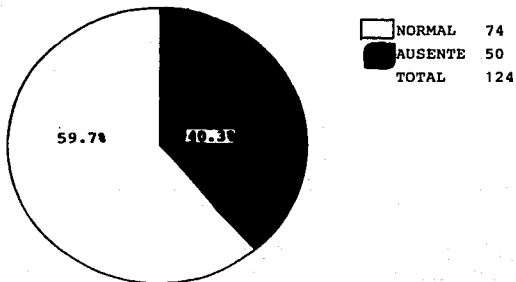


GRAFICA IV
EPITELIZACION

MEMBRANAS AMNIOTICAS FRESCAS

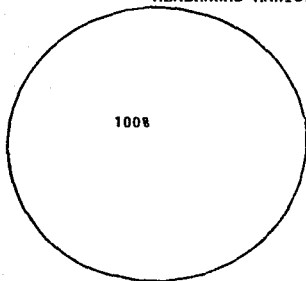


MEMBRANAS AMNIOTICAS ALMACENADAS



GRAFICA V
CICATRIZACION

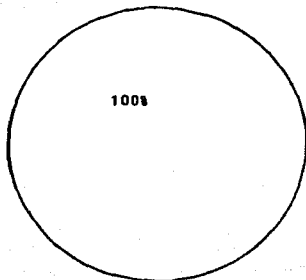
MEMBRANAS AMNIOTICAS FRESCAS



100%

NORMAL 8

MEMBRANAS AMNIOTICAS ALMACENADAS



100%

NORMAL 124

X I BIBLIOGRAFIA

- 1.- ALEXANDER J.W., CRAYCRAFT T.K. Prolongation of allogeneic skin survival by in vitro treatment with fluocinolone acetonide: Effect of incubation time and length of storage. *The Journal of trauma* 1974;14:836.
- 2.- ACHAUER B.M. Tratamiento de las Quemaduras en Achauer B.M. *Atención del Paciente Quemado*. 1988 Editorial El Manual Moderno: 92 - 107.
- 3.- ARTUSON G. Pathophysiological aspects of the burn syndrome with special reference to liver injury and alterations of capillary permeability. *Act Chir Scandinav Suppl* 1961;274.
- 4.- ARTZ C.P. Improvin oral protein nutrition. *Postgrad Med*. 1968;43:223.
- 5.- ALTEMEIER W.A., MAC MILLAN B.G. The dynamics of infection in burns. In ARTZ C.P. (ed) *Research in Burns Philadelphia P.A. Davis Company* 1962;203.
- 6.- ARTZ C.P., MONCRIEF J.A., FRUITT B.A. In *Burns a team Aproach*. W.B. Saunders 1979.
- 7.- BENAVIDES A., FERRONI C., VESPELIANTI R. Beneficios de la utilización de las membranas placentarias en Quemaduras en Niños. *Rev Argent Quemaduras* 1984;2:25.
- 8.- BROWN J.B. Postmortem homografts as "Biologic dressing" for extensive burns and denuded area. *Ann Surg* 1953;138:164.
- 9.- BURGOS H., PAGE W. The maintenance of human amniotic membranes in culture. *Brit J Obst and Gynecol* 1981;88:294.
- 10.- BURKE J.F., MAY J.W., ALBRIGHT N., ET AL. Temporary skin transplantation and immunosuppression for extensive burns. *N Engl J Med* 1974; 290:269.
- 11.- BURKE J.F., CONSTABLE J.D. Systemic changes and replacement therapy in burns. *J Trauma* 1965;5:242.
- 12.- CARNES R. Skin banking In *Manual of Burns Therapeutics: An Interdisciplinary Approach* de SALISBURY R.E. , NEWMAN N.M., DINGEGELDEIN G.P. Little, Brown and Co. Boston 1986;273.
- 13.- CANNON B., COPE O. Rate of epithelial regeneration. A clinical method of measurement and the effect of various agentes recommended in the treatment of burns. 1943;117:85.

- 14.- COLOCHO G., GRAHAM W.P. III., GREENE A.E., MATHESON D.W., LYNCH D. Human amniotic membranes as a physiologic wound dressing. Arch Surg 1974;109:370.
- 15.- COPE O., GRAHAM J.B. MORRE., BALL. The redistribution of body water and fluid therapy of the burned patient. Ann Surg 1947;126:1010.
- 16.- DANFORTH D.N., HULL. The microscopic anatomy of the fetal membranes with particular reference to the detailed structure of the amnion. Am J Obstet Gynecol 1958;75:536.
- 17.- DINO B.R., EUFEMIO G.G., DEVILLA M.S. Human amnion . Establishment of an Amnion Bank and its practical applications in Surgery. J Philip Med Assoc 1966;42:357.
- 18.- DOUGLAS B. Homografts of fetal membranes as Covering for large Wounds especially form Burns. J Tenn Med Assoc 1952;45:230.
- 19.- FRESHWATER M.F., KRIZEK T.J. Skin grafting of Burns. A Centennial. J Trauma 1971;11:862.
- 20.- GALLICO G.G. ET AL. Permanent coverage of large burn wounds with autologous cultured human epithelium. N Engl J Med 1984;311:448.
- 21.- HAM A.W. Sistema reproductor femenino en Tratado de Histología. Nueva Editorial Interamericana 1975: 814.
- 22.- HEIMBACH D.M. Excisión e injerto temprano en Quemaduras. Clin Quir N A 1987;1:103.
- 23.- HOYES A.D. Structure and function of the amnion. Obst Gynecol Annu 1975; 1:38 .
- 24.- JOHNSON C.L., O'SHAUGHNESSY E.J., OSTERGEN G. Tratamiento de las Quemaduras en Tratamiento de las Quemaduras. Ed El Manual Moderno 1983 : 20.
- 25.- KRIZEK T.J., ROBSON M.C. KHO E. Bacterial growth on skin graft survival. Surg Forum 1967; 18:518.
- 26.- KUCAN J.O. Amniotic membranes as dressings following dermoabrasion. Ann Plastic Surg 1981;5:354.
- 27.- MATTEWS R.N. Wound healing using amniotic membranes. Brit J Plast Surg 1981;34:456.
- 28.- MATTEWS R.N. A review of the role of amniotic membranes in surgical practice. Obstet Gynecol Ann 1982;11:31.
- 29.- PAHAMUT N. The place of the amniotic membranes in the treatment of burns in children. Aust Nurses J 1982;2:21

- 30.- PERY J., TSUR H., HOROWITZ A., GARIT F. Enzimatic chemical modification of human amniotic and human skin as a means for the preparation of biological dressing. Burns Engl: Ther Inj 1982;31:207.
- 31.- FRITCHARD J.A., MACDONALD P.C. La placenta y las membranas fetales En WILLIAMS Obstetricia. Salvat Editores 1980:102 - 144.
- 32.- QIMBY W.C., HOOVER H.C., SCHEFLAN M., ET AL. Clinical trial of amniotic membranes in burn wound care. Plast Reconstr Surg 1982; 70: 711.
- 33.- RAPPAPORT I., PEPINO A.T., DIETRICK W. Early use of xenografts as a biological dressing in burn trauma. Ann J Surg 1970;120:144.
- 34.- ROBSON M.C. KRIZEK T.J. Predicting skin graft Survival J Trauma 1973 13:213
- 35.- ROBSON M.C., KRIZEK T.J. The effect of human amniotic membranes on the bacterial population of infection rat burns. Ann Surg 1973;144:177.
- 36.- ROBSON M.C., KRIZEK T.J., KOSS N., SAMBURG J.L. Amniotic membranes as a temporary wound dressing. Surg Gynecol Obstet. 1973; 136:787.
- 37.- ROBSON M.C., SAMBURG J.L., KRIZEK T.J. Quantitative comparison of biological dressing. J Surg Res. 1973;14:431.
- 38.- SALISBURY R.E. Thermal burns In Plastic Surgery. MC CARTHY J.C. W.C. Saunders Company 1990;1:787-848.
- 39.- SILVERTON J.S. et al. The use of amniotic membranes in acute massive full thickness loss of the abdominal wall from clostridial myonecrosis. Ann Plast Surg 1979;3:558.
- 40.- SONG I.C., BROMBERG B.E., MOHN M.P., KOEHLNLEIN E. Heterografts as Biological Dressing for large wounds. Surgery 1966;59:576.
- 41.- SOFF H.S., PEARSON E., ARTZ C.P. An analysis of alterations in body compositing in burned patientes. Surg Gynec & Obstet 1961;112:425.
- 42.- SUTHERLAND A.B., BATCHELOR A.D.R. Nitrogen balance in burned children. In Wallace A.B. & Wilkinson Ann. Research in Burns Edimburg E.& S. Livingston L.T.D. 1966;147.
- 43.- THOMPSON P.D., PARKS D.H. Monitoring banking, and clinical use of amnion as a burn wound dressing. Ann Plast Surg 1981;5:354.
- 44.- TRELFOED J.D., TRELFOED M.S. The amnion in Surgery Past and present. Am J Obstet Gynecol. 1979;134:833.
- 45.- TRELFOED M.S. et al. Replacement of the peritoneum with amnion following pelvic exenteration. Surg Gynecol & Obstet 1977;145:699.
- 46.- WALKER A.B., COONEY D.R., ALLEN J.E. Use of fresh amnion as a Burn Dressing. J Pediatric Surg 1977;12:391.

- 47.- WALTERS P.T. Methodology in preparation and storage of amniotic membranes for use a biological dressing; presented at American Burn Association Meeting, Anaheim California 1976.
- 48.- WOLF D.L. Evaluation of Biological dressings. Plast Reconstr Surg 1980; 5:435.