

Membrana Amniótica

Generalidades de la Membrana Amniótica

La placenta se desarrolla a partir de los tejidos de la madre y del feto, contiene a este último y consta de dos porciones: una fetal, integrada por el corion, y una materna, integrada por la decidua. Es un órgano transitorio y al estar formada por tejidos embrionarios y maternos posee genotipos diferentes. Así mismo está compuesta por el disco placentario y las membranas que contienen al feto y al líquido amniótico.

Saco amniótico: porción membranosa de la placenta que contiene al feto y al líquido amniótico.

Amnios: Es la membrana que cubre la cara fetal de la placenta formando la superficie externa del cordón umbilical. Está en contacto directo con el líquido amniótico y por fuera está adherida al corion.

La función de la placenta es de protección, de glándula endócrina, de nutrición y de comunicación entre el feto y la madre. Es aquí donde se intercambian la circulación fetal y materna, estableciendo un flujo constante entre ambos, compuesto por elementos nutritivos, elementos de deshecho y hormonas.

Una placenta madura, en promedio, mide alrededor de 15-20 cm de diámetro por 2 a 3 cm de espesor, cubre 25-30% de la superficie uterina y pesa unos 500 gramos al término del embarazo. Se calcula que la superficie de intercambio entre la circulación materna y la fetal es de 90 mts². Después del alumbramiento, el útero continúa las contracciones, lo que causa el desprendimiento de la placenta de la pared uterina expulsando así la porción fetal de la placenta, junto con la membrana amniótica. Todo este proceso se demora unos 30 minutos.

En el caso de la donación de la placenta, una de las características a tener en cuenta es que en el BTHG sólo aceptamos las placentas que hayan sido obtenidas en partos por cesárea, ya que el canal vaginal no se encuentra estéril y al pasar por éste los tejidos podrían contaminarse.

Características de la membrana amniótica:

El amnios humano es una membrana fetal unida al corion constituyendo el saco amniótico que lleno de líquido amniótico protege al feto y brinda un medio adecuado para su crecimiento. Es una membrana fina, semi transparente, compuesta por una capa interna epitelial, una gruesa membrana basal y una capa estromal avascular de tejido conectivo fetal con escasa cantidad de fibroblastos.

Posee características físicas, bioquímicas y biomecánicas que permiten su utilización en diversas enfermedades humanas.

En la capa estromal existen factores liberadores, de proliferación y

angiogénicos, que reducen la inflamación y modulan la cicatrización. La capa epitelial compuesta por un epitelio cúbico simple que asienta sobre una gruesa membrana basal rica en colágenos III y IV y laminina favorece la adhesión y migración celular estimulando la reepitelización, propiedad muy valorada. Otra propiedad muy importante es la ausencia de reacción inmune ante este tejido, evitando así el agregado de otro factor de inflamación. También reduce considerablemente el dolor y las posibilidades de infecciones.

Características de la membrana amniótica:

- 1 Regula el transporte hidroelectrolítico.
- 2 Disminuye el crecimiento bacteriano.
- 3 Presenta escasa inmunogenicidad.
- 4 Facilita la reepitelización.
- 5 Alivia el dolor y disminuye la inflamación.
- 6 Inhibe la apoptosis de las células epiteliales.
- 7 Evita la vascularización y la fibrosis de la córnea, útil en oftalmología.

Por último quisiéramos resaltar el hecho de que las placentas que no se donan se descartan en la basura, cuando podrían ser utilizadas por muchísimos pacientes a un costo de procesamiento, en comparación con las otras alternativas, muy bajo, haciendo que en definitiva se malgasten valiosos recursos de manera innecesaria ya que este tejido ha demostrado sobradamente poseer excelentes propiedades en todos los campos en los que se lo ha utilizado.



Procesamiento de Membrana Amniótica

La placenta es obtenida por el obstetra sólo en los partos por cesárea, esto es debido a que el paso del tejido por el canal vaginal podría producir la contaminación del tejido. En el quirófano la placenta es colocada en una bolsa estéril, con 100 ml de solución fisiológica fría estéril, la bolsa es sellada e introducida en una segunda bolsa estéril, se la sella y ambas son introducidas en una tercera bolsa estéril. Así mismo se extraen unos pocos mililitros de sangre de la madre, y se envían al BTHG junto con la placenta en una conservadora con suficiente hielo como para mantener la cadena de

frío. Una vez que la conservadora ingresó en el banco, se remite la sangre al laboratorio donde se le realizará el control serológico y se comienza con los preparativos para el procesamiento de la placenta.

El procesamiento de la membrana amniótica tiene dos tiempos denominados primario y secundario.

Procesamiento primario:

Una vez ingresada la placenta al banco, se lleva a cabo este procedimiento que consiste en la separación de la membrana amniótica de la coriónica y de la placenta, de forma manual y bajo flujo laminar de seguridad biológica. Así mismo se toman controles de la solución en la que fue transportada, para realizar su cultivo.

Una vez separada la membrana amniótica, ésta es lavada mediante su agitación en solución fisiológica fría estéril, durante unos minutos por tres veces, cambiando la solución entre lavado y lavado. Si quedasen restos de placenta en la membrana se procede a extender la misma sobre un campo estéril y se limpian manualmente mediante maniobras suaves y delicadas.

Por último se la coloca en un frasco que contiene una solución de incubación compuesta por una mezcla de cinco antibióticos más una solución nutritiva, y se la deja allí por unos días, hasta el comienzo del procesamiento secundario.



Procesamiento secundario:

Una vez completado el tiempo de incubación, la membrana amniótica es retirada de la solución y se procede a lavarla por medio de agitación en solución fisiológica fría estéril, por tres veces, para así eliminar los restos antibióticos. Luego se la extiende sobre un campo estéril y se procede a

cortarla, de acuerdo a los distintas necesidades que haya en ese momento; la membrana puede ser almacenada entera o en fragmentos de 4x4 cm, formato que es utilizado en oftalmología. Finalizado este tiempo la membrana es introducida en una solución crioprotectora especialmente diseñada para que el tejido no sufra daños al ser criopreservada y para que pueda mantenerse sin alteraciones por al menos 5 años a una temperatura de -80°C , se la envasa y sella al vacío. Previo a este proceso se extrae una muestra de la solución de criopreservación y una biopsia del tejido como controles, los cuales son remitidos al servicio de microbiología del Hospital Garrahan donde se les realizarán los procedimientos pertinentes para establecer si el producto se ha contaminado o se encuentra estéril.

Cuando finaliza esta etapa se coloca la membrana envasada y sellada en un freezer mecánico a -80°C en fase de cuarentena hasta que se hayan completado todos los controles necesarios para que el tejido sea considerado apto para implante. Una vez que los controles y la serología resultan negativos, se la coloca en el stock definitivo donde permanecerá hasta su utilización.



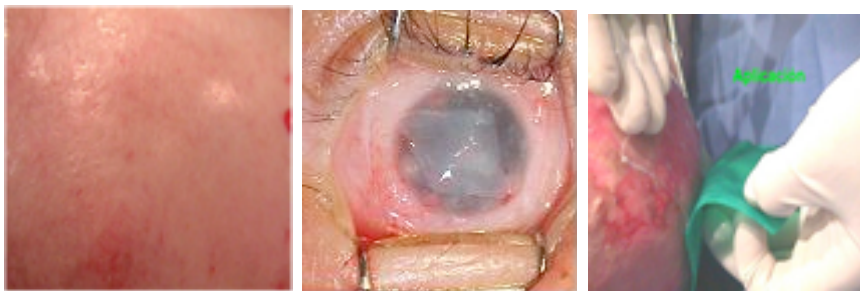
Utilización de Membrana Amniótica

Se la utiliza en oftalmología para el tratamiento de diversas afecciones, tales como pterigion, úlceras corneales, glaucoma, quemaduras, leucomas, etc., ya que actúa inhibiendo la neovascularización y la fibrosis.

Dado que la membrana es semi traslúcida favorece el control de la evolución del sitio de implantación sin la necesidad de retirar el tejido, evitando así una manipulación innecesaria de las heridas.

En el tratamiento de quemados es utilizada como cubierta transitoria, ya que alivia el dolor, evita la deshidratación, disminuye las infecciones y facilita la reepitelización.. También es utilizada para el tratamiento de diversas enfermedades dermatológicas, como el síndrome de Lyell, y en úlceras cutáneas.

Las posibilidades del empleo de este tejido son muy diversas, se ha publicado su empleo en cultivos celulares, cirugías reparadoras, cirugía máxilo-facial, úlceras, cirugías ginecológicas, etc., y sus distintas aplicaciones continúan aumentando gracias a que este es un tejido versátil, muy útil y fácilmente manipulable.



Historia de la Membrana Amniótica

Los intentos racionales de utilizar la parte más interna del amnios, es decir la membrana amniótica, en medicina, han sido realizados desde hace muchos años. Las primeras experiencias de utilización de membranas fetales se realizaron hace ya casi 100 años. En 1910, David comunica el primer intento de injertar fragmentos de la capa más interna del saco amniótico con el fin de favorecer la granulación de una herida abierta. Dos años más tarde es tratado con membrana amniótica el primer gran quemado. Posteriormente, en 1913, Stern y Sabella emplearon el implante de membrana amniótica en el tratamiento de ulceraciones y quemaduras de la superficie cutánea, observando una ausencia de infecciones en las heridas limpias, una importante reducción del dolor y un aumento en la velocidad de reepitelización de la superficie cutánea traumatizada. De todas formas nos encontramos ante soluciones de emergencia dado que estos fragmentos de membrana eran sólo provisionales, necesitaban ser cambiados cada pocos

días y eran retirados en cuanto se disponía de otro tejido dado que se creía que podían inducir rechazo. Este temor era lógico en aquel momento ya que la mayor parte de los autores utilizaban la membrana amniótica adherida al corion y, por lo tanto, no es la membrana basal acelular que utilizamos en nuestros días. Desde ese momento los tejidos placentarios humanos (y bovinos en casos aislados) han sido utilizados de muy diversas formas por diferentes especialidades médicas. En oftalmología, los primeros en utilizar membranas fetales fueron De Rotth, en 1940, y Sorsby, en 1947, para la reconstrucción de la superficie ocular. Posteriormente, durante un período de casi 50 años no se publicaron nuevos trabajos de utilización de la membrana amniótica, probablemente por problemas en el procesamiento y conservación del tejido. Sin embargo, en 1995, Kim y Tseng reintroducen el trasplante de membrana amniótica preservada en el tratamiento de la patología de la superficie ocular, y con ellos renace el interés por el uso de este tejido. Utilizaron la membrana amniótica para la reconstrucción de la superficie ocular de ojos de conejo severamente dañados y demostraron en sus trabajos que el 40 % de las córneas de conejo con deficiencia total de las células madre limbares podían reconstruirse reemplazando la superficie ocular conjuntivalizada con una membrana amniótica humana criopreservada.

En el año 2000, en el Hospital Garrahan y a pedido del INCUCAI, se comenzaron las investigaciones sobre distintos métodos de procesamiento y conservación de la membrana amniótica para uso oftalmológico. Luego de seleccionar los protocolos que mejor se adecuaban a nuestro medio comenzamos con la etapa de procuración y procesamiento. Así, en el año 2001 se inaugura oficialmente el banco de membrana amniótica del hospital, siendo por mucho tiempo la única fuente de este tejido para oftalmología en el país. En el año 2002 se comenzó a procesar la membrana amniótica para su utilización como cobertura biológica en pacientes quemados, reportando excelentes resultados.

Como consecuencia de la creciente demanda del tejido y de los buenos resultados obtenidos, el BTHG ha procesado ininterrumpidamente cientos de placentas a lo largo de todos estos años, distribuyendo más de 240.000 cm² de tejido procesado para su utilización en pacientes de todo el país.

En la Argentina existen 5 bancos de amnios habilitados por el INCUCAI: tres en Buenos Aires, uno en Santa Fe y otro en Mendoza.

Instrucciones para el Manejo del tejido

El **BTHG** ha enviado membrana amniótica a todo el país e incluso al exterior. La misma es remitida en conservadoras con hielo seco suficiente para garantizar que la cadena de frío se mantenga por al menos 24 horas en cualquier condición climática.

La membrana amniótica está colocada en paquetes de doble bolsa estéril, con solución de criopreservación sobre un campo quirúrgico en su formato de 4X4 y 10X10 cm y sólo con solución de criopreservación en su formato entero.

Descongelado y lavado de la membrana amniótica:

Descongelado:

Se deberá retirar el tejido con cuidado ya que si se lo llegara a golpear podría quebrarse debido a la baja temperatura a la que se encuentra. Así mismo deberá tomarse la precaución de no tocar el hielo seco para evitar quemaduras. La doble bolsa estéril se colocará debajo de la canilla de agua corriente. El agua deberá ir calentándose gradualmente, hasta que no haya hielo visible.

Luego, una vez descongelado el tejido, la circulante abrirá la bolsa externa según técnica habitual, mientras que la instrumentadora tomará con pinza estéril la bolsa interna.

Se procede a la apertura de la bolsa interna y se retira el tejido.

El BTHG recomienda tomar una muestra de la solución de criopreservación para su cultivo.

Lavado:

Una vez retirado el tejido se lavará tres veces con solución fisiológica fría y estéril. La membrana amniótica ya se encuentra lista para ser implantada.

Si se desea reservar hasta el momento de su utilización, se deberá colocar en un frasco estéril con solución fisiológica estéril y fría sobre la mesa de cirugía. Una vez finalizada la cirugía se debe confeccionar el Certificado de Implante que provee el BTHG con todos los datos requeridos y se enviará por fax o por carta al Banco.