



UNIVERSIDAD DE SEVILLA



FACULTAD DE FARMACIA

TRABAJO FIN DE GRADO  
GRADO EN ÓPTICA Y OPTOMETRÍA

# MEMBRANA AMNIÓTICA FETAL COMO TRATAMIENTO CICATRIZANTE EN CIRUGÍA REFRACTIVA DE SUPERFICIE

MARÍA DEL MAR CRUCES CASANUEVA



**UNIVERSIDAD DE SEVILLA**

**FACULTAD DE FARMACIA**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**GRADO EN ÓPTICA Y OPTOMETRÍA**

# **MEMBRANA AMNIÓTICA FETAL COMO TRATAMIENTO CICATRIZANTE EN CIRUGÍA REFRACTIVA DE SUPERFICIE**

**AUTORA:** María del Mar Cruces Casanueva

**TUTOR:** José María Sánchez González

**COTUTOR:** Concepción De Hita Cantalejo

**DEPARTAMENTO:** Física de la Materia Condensada

**TIPOLOGÍA DEL TRABAJO:** Bibliográfico

**LUGAR Y FECHA DE LA PRESENTACIÓN:** aula 2.1 (Facultad de Farmacia) el día  
19 de julio de 2021.

## RESUMEN

El trabajo que nos ocupa es una revisión bibliográfica sobre el uso de la membrana amniótica como tratamiento cicatrizante en cirugía refractiva, más concretamente, en la queratectomía fotorrefractiva (PRK). Las primeras evidencias que demuestran el uso de este tejido en alteraciones de la superficie ocular se remontan a mediados de los años 90, cuando de Röhth la usó para tratar daños conjuntivales.

Las propiedades que se podían obtener de su uso demostraron ser de utilidad para tratar determinados tipos de desajustes oculares. La investigación de su aplicación ha permitido conducir su desarrollo hasta métodos de conservación más eficientes, distintas formas de adaptación (que dependerán del tipo de defecto) o en qué alteraciones es más eficaz.

El uso de la membrana como tratamiento cicatrizante en PRK es un método novedoso que tiene que competir con los ya establecidos. Necesita, todavía, una gran evolución en su estudio y experimentación ya que los resultados no han demostrado ser concluyentes. En este estudio se trata su utilidad de una manera más individual, además de comparar su eficacia en el tratamiento cicatrizante después de cirugía refractiva y sus aplicaciones en alteraciones de la superficie ocular.

En oftalmología, el uso de membrana amniótica es conocido pero no suele ser el método de elección ya que no deja de resultar una forma invasiva de resolver los problemas existentes en la superficie ocular. Además, la cantidad disponible de este tejido en los bancos de órganos, no es demasiado alta, los métodos de conservación y transporte suponen un gasto elevado y el porcentaje de éxito con respecto a los tratamientos establecidos no es lo suficientemente alto como para desbancarlos. En definitiva, tiene una eficacia modesta.

**Palabras clave:** “membrana amniótica”, “PRK”, “tratamiento cicatrizante”, “Prokera”.

## ABSTRACT

This paper is a review of the literature about the use of amniotic membrane as a healing treatment in refractive surgery, more specifically in photorefractive keratectomy (PRK). The first evidence demonstrating the use of this tissue in ocular surface alterations dates back to the mid-1990s, when de Róth used it to treat conjunctival damage.

The properties that could be obtained from its use proved to be useful for treating certain types of ocular disorders. Research into its application has led to the development of more efficient conservation methods, different forms of adaptation (which will depend on the type of defect) or on which disorders it is most effective.

The use of the membrane as a healing treatment in PRK is a new method that has to compete with those already established. It still needs a great deal of evolution in its study and experimentation, as the results have not been conclusive. This study deals with its usefulness on a more individual basis, as well as comparing its efficacy in the treatment of scarring after refractive surgery and its applications in ocular surface alterations.

In ophthalmology, the use of amniotic membrane is well known, but it is not usually the method of choice as it is still an invasive way of solving problems on the ocular surface. Moreover, the amount of this tissue available in organ banks is not very high, the methods of preservation and transport are expensive, and the success rate with respect to established treatments is not high enough to overcome them. In short, its effectiveness is modest.

**Key words:** “amniotic membrane”, “PRK”, “healing treatment”, “Prokera”.

## ÍNDICE

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>   | <b>6</b>  |
| 1.1. CÓRNEA .....   | 6         |
| 1.2. CIRUGÍA CORNEAL .....  | 9         |
| 1.3. IMPLANTE DE MEMBRANA AMNIÓTICA .....   | 13        |
| <b>2. OBJETIVOS.....</b>  | <b>22</b> |
| <b>3. METODOLOGÍA .....</b>   | <b>23</b> |
| <b>4. RESULTADOS.....</b>   | <b>24</b> |
| <b>5. DISCUSIÓN.....</b>  | <b>28</b> |
| 5.1. TRATAMIENTOS COMUNES VS. APLICACIÓN DE MEMBRANA<br>AMNIÓTICA.....  | 28        |
| 5.2. MEMBRANA AMNIÓTICA OBTENIDA A TRAVÉS DE PARTOS NATURALES<br>VS. MEMBRANA AMNIÓTICA OBTENIDA A TRAVÉS DE CESÁREA. ....              | 28        |
| 5.3. CONSERVACIÓN DE LA MEMBRANA AMNIÓTICA: CRIOPRESERVADA VS.<br>LIOFILIZADA VS. FRESCA.....   | 29        |
| 5.4. ASPECTO ÉTICO DEL USO DE MEMBRANA AMNIÓTICA .....  | 30        |
| 5.5. USO DE LA MEMBRANA AMNIÓTICA EN HUMANOS: EL ÉXITO EN<br>ALTERACIONES DE LA SUPERFICIE OCULAR VS. EL FRACASO DESPUÉS DE<br>PRK..... | 32        |
| 5.6. LÍNEAS FUTURAS DE INVESTIGACIÓN .....  | 34        |
| 5.7. EL USO DE LA MEMBRANA AMNIÓTICA Y EL SARS-CoV-2 .....  | 34        |
| <b>6. LIMITACIONES Y FORTALEZAS.....</b>  | <b>35</b> |
| <b>7. CONCLUSIÓN.....</b>   | <b>35</b> |
| <b>8. BIBLIOGRAFÍA.....</b>   | <b>36</b> |

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. CÓRNEA

La córnea es una estructura ocular con función refractiva y protectora, actuando como una barrera. (Fielding Hejtmancik & Nickerson, 2015). Se caracteriza por la alta transparencia que está proporcionada por la ausencia de vasos sanguíneos y por el mecanismo regulador de entrada y salida de líquidos de este tejido. (Franco Benito, 2011).

Es la superficie más curva del ojo a la que se le atribuyen dos tercios de la potencia total del globo ocular, aproximadamente +43D. (Puell, 2006). Tiene forma de menisco convergente, donde la cara anterior (recubierta por la película lagrimal) está en contacto con el aire y la posterior con el humor acuoso de la cámara anterior. El cambio de medio (y por tanto de índice de refracción) en la trayectoria de la luz cuando incide sobre la córnea es lo que provoca la refracción, cambio de dirección y velocidad, de la misma. (Gris Castellón, 2004). Es por ello que se considera de las estructuras con un mayor poder dióptrico del ojo. El radio de curvatura no se mantiene homogéneo a lo largo de la superficie, sino que se va aplanando conforme se acerca a la periferia, por lo que se considera una córnea esférica. (Puell, 2006). (Figura 1).

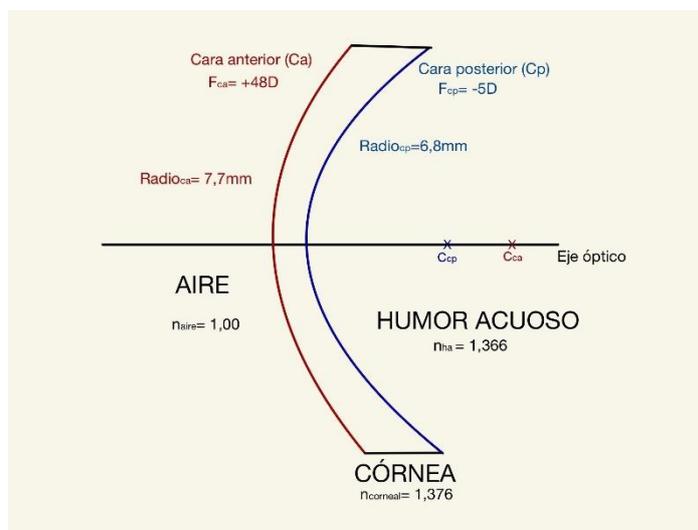


Figura 1. Perfil de la córnea humana.

Es una estructura avascular, lo que favorece el proceso refractivo de la luz, y la más sensible del cuerpo humano. (Fielding Hejtmancik & Nickerson, 2015). En ella desembocan miles de terminaciones de nervios sensitivos procedentes de la rama nasociliar de la división oftálmica del nervio trigémino. Es un tejido multicapa; cada una de ellas está formada por células diferentes que, además, desempeñan papeles distintos (Fielding Hejtmancik & Nickerson, 2015). (Figura 2, Figura 3):

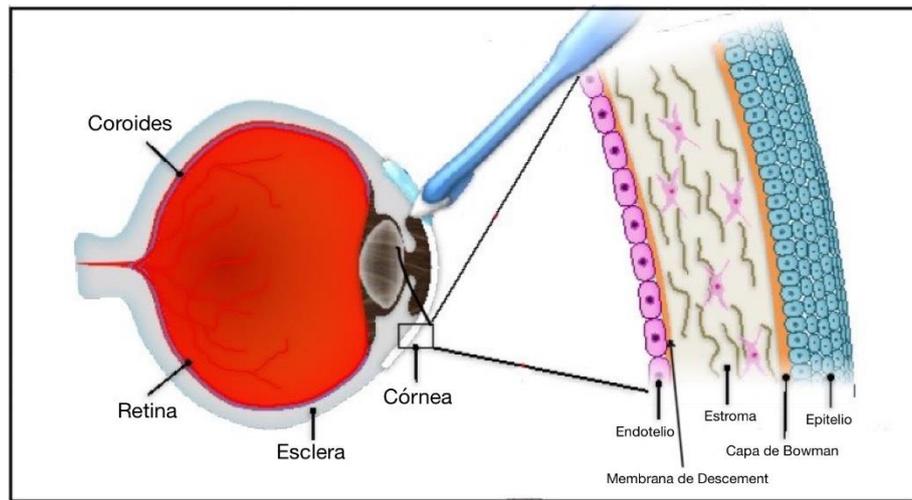


Figura 2. Capas de la córnea. (Trujillo-de Santiago et al., n.d.).

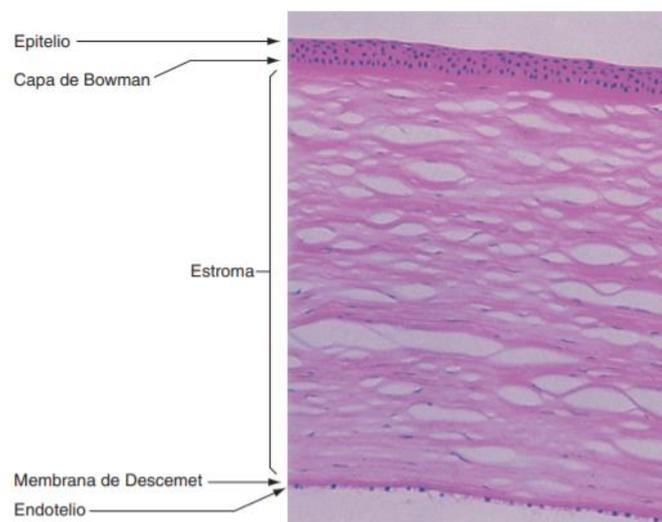


Figura 3. Capas de la retina al microscopio. (Barberán Bernardos, 2020).

### 1.1.1. EPITELIO CORNEAL

Mide alrededor de 50 $\mu$ m de espesor. Está formado por múltiples capas de células epiteliales, conformando un epitelio plano, estratificado, no queratinizado. (Fielding Hejtmancik & Nickerson, 2015).

En la zona más apical cuenta con la presencia de microvellosidades que permiten aumentar el área superficial sobre la que se adhiere la mucina, uno de los componentes del film lagrimal. (Fielding Hejtmancik & Nickerson, 2015). La zona central está provista de varias capas de células aladas. (Barberán Bernardos, 2020). Presenta una capa simple, más posterior, de células basales columnares, capaces de diferenciarse y migrar hacia las capas más superiores para sustituir a las antiguas células epiteliales. Las microvellosidades aparecen a lo largo del proceso. (Fielding Hejtmancik & Nickerson, 2015). En definitiva, la capa de células basales tiene capacidad

regenerativa. La regeneración celular suele durar de 7 a 14 días. Estas células están unidas a la membrana basal que, a su vez, se posa sobre la capa de Bowman. (Barberán Bernardos, 2020; Fielding Hejtmancik & Nickerson, 2015)

De manera general, el epitelio se encarga de la prevención del ataque de agentes patógenos (Fielding Hejtmancik & Nickerson, 2015); impide la penetración de la lágrima (u otro tipo de sustancias provenientes del exterior), al interior del grueso corneal, gracias a las fuertes uniones intercelulares. Junto con la película lagrimal, promueven la formación de una superficie lisa, lo que la hace perfecta para el desarrollo del fenómeno óptico que experimenta la luz cuando incide sobre la córnea. (Gris Castellón, 2004).

### **1.1.2. CAPA DE BOWMAN**

Mide entre 12 y 15 $\mu$ m de espesor. Es una capa acelular y sin propiedad regenerativa.

La cara anterior está en contacto directo con la membrana basal del epitelio y la zona más posterior está provista de fibras de colágeno, I y III, que se terminan de distribuir por la siguiente capa: la estromal. (Barberán Bernardos, 2020; Fielding Hejtmancik & Nickerson, 2015; Franco Benito, 2011). El colágeno tipo I es el más abundante del organismo. Se encuentra en gran parte de los tejidos conectivos, tales como córnea, tendones, huesos, piel, ligamentos, pulmón y sistema vascular. Se encarga de proporcionar rigidez. El colágeno tipo III está presente en todos los tejidos compuestos por colágeno tipo I excepto en los huesos. (Paz, 2016)

La función de la membrana de Bowman se basa en mantener la transparencia corneal y actuar como un escudo protector frente al ataque de microorganismos externos. (Barberán Bernardos, 2020; Franco Benito, 2011)

### **1.1.3. ESTROMA**

Mide, aproximadamente, 500 $\mu$ m de espesor. Es la capa más gruesa de la córnea y ocupa el 90% del espesor de la misma. (Fielding Hejtmancik & Nickerson, 2015). Es una capa constituida, principalmente, por una extensa red de fibras de colágeno (del tipo I y V) y por una matriz extracelular compuesta de agua, sales inorgánicas, proteoglicanos y glicoproteínas. (Fielding Hejtmancik & Nickerson, 2015).

Tiene una función principalmente estructural, manteniendo la arquitectura de la córnea. Esta es desempeñada por los queratocitos que son las células más importantes de este estrato. Son los encargados de producir, entre otros, el colágeno que compone la capa estromal. (Fielding Hejtmancik & Nickerson, 2015). No solo favorecen el mantenimiento del soporte corneal, también ayuda a mantener la transparencia corneal (Fielding Hejtmancik & Nickerson, 2015).

Controla la entrada de agua en la córnea manteniendo la principal característica de esta estructura: la transparencia. (Park & Tseng, 2000).

#### **1.1.4. MEMBRANA DE DESCEMENT**

El grosor de esta capa varía con el desarrollo, llegando a alcanzar unos 10µm en la edad adulta. Es la membrana anterior a la última capa, el endotelio. (Fielding Hejtmancik & Nickerson, 2015).

Está formada, entre otros, por colágeno del tipo IV y VIII. (Fielding Hejtmancik & Nickerson, 2015). El colágeno tipo IV no es fibrilar y es específico de las membranas basales. El colágeno tipo VIII se encarga de la formación de redes hexagonales. Es producido por las células endoteliales y solo se encuentra en la membrana de Descement. (Paz, 2016).

Su función aún está por determinar. (Barberán Bernardos, 2020).

#### **1.1.5. ENDOTELIO**

El endotelio es un estrato formado por una única capa de células hexagonales. Su grosor es de unos 5µm, es la última capa corneal y está en contacto con el humor acuoso. (Barberán Bernardos, 2020; Franco Benito, 2011). Su función es fundamental en la estructura: controla la entrada de líquido de la cámara anterior a la córnea, evitando que esta sea excesiva viéndose mermada la transparencia de la córnea. (Fielding Hejtmancik & Nickerson, 2015). Mantiene una relación inversamente proporcional con el aumento de la edad debido a su incapacidad regenerativa. Con el tiempo se aplanan y disminuye considerablemente la densidad celular. (Barberán Bernardos, 2020).

### **1.2. CIRUGÍA CORNEAL**

Los métodos más útiles para la corrección de las ametropías se basan en el uso de láser excímer para ablacionar parte del lecho estromal en función de la cantidad de error refractivo que se quiera corregir. (René Moreno et al., 2010).

El láser excímer se trata de una mezcla de gases, siendo el más usado en cirugía refractiva, la combinación de argón y flúor. El componente principal es encerrado en un tubo, que es atravesado por un flujo continuo de electrones. (Pidro et al., 2019). Esto provocaría la generación de dímeros excitados que, al desenlazarse, emiten energía láser del orden de 193nm. (Machado Fernández et al., 1999). Esta rompe los enlaces de carbono que unen los átomos que componen las células del estroma. (Pidro et al., 2019).

Esta combinación es ideal para la corrección de errores refractivos porque son altamente precisos, fáciles de controlar y no conllevan la producción de daños físicos colaterales, dispersión del calor u otro tipo de efecto que sí es generado por otro tipo de láseres. (Pidro et al., 2019).

La ablación es la actividad principal llevada a cabo en este tipo de procedimientos. En definitiva, el procedimiento quirúrgico usado en la corrección de ametropías se basa en la remodelación de la córnea para poder alcanzar la forma que conceda la emetropía. (Pidro et al., 2019).

Actualmente existen diferentes técnicas usadas para este fin. La elección estará condicionada, principalmente, por las características corneales. (René Moreno et al., 2010).

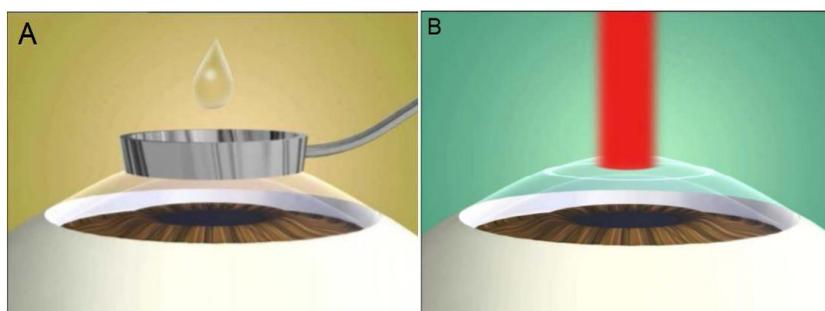
### 1.2.1. QUERATECTOMÍA FOTORREFRACTIVA

Se llama, comúnmente, PRK, que es la sigla, en inglés, de queratectomía fotorrefractiva. Fue llevada a cabo, en 1987, por el Dr. Theo Seiler. (Seiler, 1991). Era el método quirúrgico de corrección de ametropías más popularizado hasta 1990 cuando, la llegada de la queratomileusis in situ con láser (LASIK) hizo que la PRK pasase a un segundo plano. A día de hoy, ambas técnicas son las más usadas para la corrección de errores refractivos gracias a las diferentes posibilidades que brindan cada una de ellas. (Somani et al., 2021).

El láser excímer solo actúa en las capas más superficiales de la córnea: epitelio, capa de Bowman y estroma superficial. Es por esto que la hace ser una técnica ideal para situaciones donde el grosor corneal es menor. (Somani et al., 2021; Spadea & Giovannetti, 2019)

#### 1.2.1.1. PROCEDIMIENTO

Los pasos a seguir en esta cirugía son, fundamentalmente, tres: desepitelización, remodelación de la córnea con láser excímer y aplicación de antibióticos (Franco Benito, 2011), en ocasiones, *Mitomicina C*. (Somani et al., 2021). (Figura 4).



*Figura 4. Procedimiento de PRK: A. Aplicación de alcohol al 20% para desepitelizar. B. Tratado de la superficie corneal con láser excímer. (Puel Marín, 2009).*

El primer paso puede llevarse a cabo por medio de varias técnicas, siendo la más usada la PRK asistida con alcohol (Somani et al., 2021). Se aplica una solución de alcohol al 20% que produce la desvitalización de las células epiteliales y se acaban separando de la capa de Bowman después de unos segundos. Las células se retiran fácilmente con una hemosteta (Somani et al., 2021), que es un pequeño utensilio, con forma de espátula, usado en cirugía ocular. En la punta presenta un

fragmento de algodón con una gran capacidad absorbente. Se usa, principalmente para limpiar la zona tratada y eliminar el exceso de líquido. (Ortiz Pérez, 2015)

Tras la desepitelización, se modela la córnea, en función de la cantidad y el tipo de error refractivo que se desee corregir, con láser excímer. (Somani et al., 2021). En caso de compensar miopía, se aplica láser en el centro de la córnea; en hipermetropía, en la periferia del perímetro de la córnea; y en astigmatismo dependerá del tipo y la orientación de los ejes. La cantidad de tejido eliminado con el láser va a ser mayor cuanto mayor sea la ametropía. (Somani et al., 2021).

Por último, se aplican unas gotas de antibiótico y se adapta una lente de contacto terapéutica que protege la zona tratada. (Somani et al., 2021).

#### 1.2.1.2. INDICACIONES

La PRK está indicada en la corrección de errores refractivos, e incluso, presbicia. En cada uno de ellos varía el límite de corrección. Normalmente, se admiten hasta -6D o -7D de corrección en miopía, +4D o +5D en hipermetropía y astigmatismos de 6D. (Provider et al., 2009; René Moreno et al., 2010). Sin embargo, el escenario ideal es la corrección de defectos pequeños, donde la cantidad de tejido ablacionado es pequeña. De esta manera se disminuyen las probabilidades de sufrir regresión, *haze* corneal y se evita la producción de ectasias o perforaciones. Esta indicación es aplicable a todos los procesos quirúrgicos de corrección de ametropías ya que, los riesgos son comunes en todos ellos. (Somani et al., 2021).

Este procedimiento quirúrgico está indicado en pacientes con grosos corneales reducidos, para los cuales, LASIK, podría suponer un peligro para la integridad corneal (Puel Marín, 2009), en personas con riesgo de pérdida del colgajo por succión, en córneas muy planas o producción de agujeros en el flap corneal al poseer córneas muy curvas. (Somani et al., 2021).

#### 1.2.1.3. CONTRAINDICACIONES

Las contraindicaciones más destacables son:

- Errores refractivos inestables: a esta condición está sujeta la edad y es que, cuanto más joven es el paciente, más inestabilidad refractiva existe. (Somani et al., 2021).
- Cataratas hipermeduras (Somani et al., 2021).
- Glaucomas descontrolados (Somani et al., 2021), (Machado Fernández et al., 1999).
- Blefaritis (Somani et al., 2021).
- Síndrome de ojo seco (Somani et al., 2021).

- Degeneraciones corneales: queratocono o degeneración marginal pelúcida. (Somani et al., 2021).
- Alteraciones sistémicas: lupus eritematoso sistémico o artritis reumatoide. Ambas enfermedades son predisponentes a generar ojo seco severo. (Somani et al., 2021).

#### 1.2.1.4. COMPLICACIONES

Es importante destacar las siguientes complicaciones:

- Dolor: la desepitelización conlleva la realización de una úlcera corneal. (Somani et al., 2021).
- Halos y deslumbramientos. (Somani et al., 2021).
- Islas corneales centrales: se tratan de acumulación de tejido provocado por la mala o inexistente retirada de detritus. (Somani et al., 2021).
- Hipo/Hipercorrecciones: el defecto o el exceso de tejido ablacionado genera una inexactitud refractiva, siendo imposible lograr la emetropía. (Somani et al., 2021; Spadea & Giovannetti, 2019).
- Regresión miópica: eran más comunes en los primeros estadíos del proceso quirúrgico. No se mantenía la corrección de la ametropía a largo plazo, es decir, se podía llegar a recuperar el mismo error refractivo. (Somani et al., 2021; Spadea & Giovannetti, 2019). Esto se debe al crecimiento epitelial descontrolado sobre las zonas de aplicación del láser. (Somani et al., 2021; Spadea & Giovannetti, 2019).
- Ectasias o perforaciones corneales: es más fácil originar estas complicaciones en córneas muy finas o en errores muy pronunciados, donde la cantidad de tejido ablacionado es mayor. (Somani et al., 2021; Spadea & Giovannetti, 2019).
- *Haze* corneal: es una complicación tardía que puede dar síntomas de 1-3 meses después de la PRK. Se trata de la migración de queratocitos y crecimiento anormal y desarrodenado de las fibras de colágeno en el lugar que ocupa la capa de Bowman. (Somani et al., 2021; Spadea & Giovannetti, 2019). Se relaciona con la profundidad de la ablación, siendo más probable la producción de *haze* corneal en errores refractivos altos, porque se ablaciona más tejido y, por tanto, el láser alcanza capas corneales más profundas. También tiene que ver con el método usado para eliminar las células epiteliales, la hidratación durante el proceso quirúrgico y la homogeneidad de la aplicación del láser. Se muestra como turbidez corneal. (Somani et al., 2021; Spadea & Giovannetti, 2019). (Figura 5).



*Figura 5. Haze corneal. (Cernák et al., 1996)*

### **1.3. IMPLANTE DE MEMBRANA AMNIÓTICA**

#### **1.3.1. MEMBRANA AMNIÓTICA. FUNDAMENTOS E HISTORIA**

##### **1.3.1.1. FUNDAMENTOS E HISTOLOGÍA**

La placenta es un órgano con forma de bolsa que envuelve al feto y lo separa de las paredes del útero materno. Se produce en el proceso de gestación, es de origen fetal y de carácter temporal porque sale al exterior en el momento del alumbramiento. (Gris Castellón, 2004; Mamede & Botelhoeditors, 2015; Peris Martínez, 2004). Su función es la de proveer al bebé de nutrientes y oxígeno circulante en sus redes sanguíneas y recoger las sustancias de desecho y dióxido de carbono que, posteriormente, serán expulsados a través de los órganos excretores maternos. (Gris Castellón, 2004; Mamede & Botelhoeditors, 2015; Peris Martínez, 2004).

Está formada por el cordón umbilical, membranas, microvellosidades y decidua. Actualmente el cordón umbilical y parte de las membranas son las que cobran una gran importancia en el campo de la medicina oftálmica. (Gris Castellón, 2004).

Las membranas son el amnios y el corion, siendo el primero el más útil en la terapéutica. El amnios es la capa más interna, la que está en contacto directo con el líquido amniótico. (Gris Castellón, 2004). Forma la cavidad donde se encuentra el feto durante la gestación. (Ortiz Pérez, 2015). Tiene una apariencia azul-grisácea, es flexible y bastante resistente. Está desprovista de vasos sanguíneos, caracterizándola con una baja antigenicidad. Deriva del ectodermo y está formada por 5 capas: (Peris, 2004). (Figura 6).

- Epitelio: capa de células epiteliales cuboides con microvellosidades que ayudan a sus funciones secretoras y de absorción. También está fuertemente ligada a la formación y secreción de líquido amniótico. (Peris, 2004).
- Membrana basal: capa basal de un grosor considerable sobre la que descansan las células epiteliales. (Gris Castellón, 2004).
- Estroma: está formado por la capa esponjosa, fibroblástica y compacta. Se trata de tejido conectivo, por lo que es rico en colágeno, pero carente de células a excepción de los

fibroblastos del estrato que lleva su nombre. Es la capa más próxima al corion. (Gris Castellón, 2004).

El corion, es la otra membrana que forma parte de la placenta y se encarga de envolver el amnios. (Ortiz Pérez, 2015).

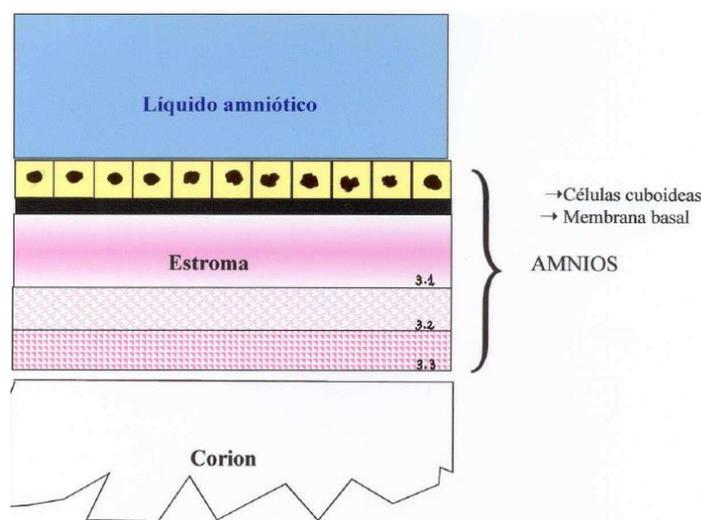


Figura 6. Esquema de MA. (Peris, 2004).

#### 1.3.1.2. ANTECEDENTES HISTÓRICOS

Los primeros momentos en los que se usó la membrana amniótica (MA) con fines terapéuticos datan del 1910 cuando Davis JW (DAVIS, 1910) la utilizó en quemaduras y úlceras cutáneas. (Mamede & Botelhoeditors, 2015; Peris Martínez, 2004).

En 1940, de Röth (de RÖTTH, 1940) trató defectos conjuntivales con MA fresca donde, no solo incluía el amnios, sino también el corion. El éxito obtenido fue bajo, concluyendo que el fracaso residía en la presencia del corion en el injerto de MA sobre la superficie ocular. (Mamede & Botelhoeditors, 2015; Peris Martínez, 2004).

En 1946, Sorsby y Symons (Sorsby & Symons, 1946) usaron MA (sólo amnios) seca como parche temporal en el tratamiento de quemaduras oculares agudas. Los beneficios cosechados fueron notables, sin embargo, el uso de MA se abandonó por causas desconocidas. (Peris, 2004).

El uso del tejido fue retomado a finales del siglo XX cuando Kim y Tseng (Kim & Tseng, 1995) lo emplearon en un modelo experimental para tratar deficiencia limbal, en diferentes grados, en conejos. (Mamede & Botelhoeditors, 2015). Demostraron la eficacia del implante en un 40% de los casos. (Peris, 2004).

Desde entonces, el interés y la importancia del uso en MA para tratar alteraciones de la superficie ocular han crecido notoriamente. (Mamede & Botelhoeditors, 2015; Peris Martínez, 2004).

### 1.3.2. PROPIEDADES Y MECANISMO DE ACCIÓN

La eficacia en el uso de MA reside en la gran cantidad de propiedades que resultan beneficiosas en el proceso de curación de heridas de la superficie ocular. Induce una mínima inmunogenicidad, constituye un sustrato de células madre limbares, (Moreno & Lorente, 2014), tiene acción antiinflamatoria, efecto reepitelizante (Mamede & Botelhoeditors, 2015; Meller et al., 2011; Moreno García & Lorente Moore, 2014), representa un escudo antimicrobiano, impide la fiosis, es antiangiogénico (Mamede & Botelhoeditors, 2015; Moreno García & Lorente Moore, 2014), permite la diferenciación de células conjuntivales a corneales e impide la apoptosis de las células epiteliales. (Peris, 2004).

### 1.3.3. TIPOS DE IMPLANTE

Existen varios tipos de implantes y, dependiendo de las alteraciones, se realizarán unos u otros.

- *Inlay* o injerto (Figura 7): el objetivo con este tipo de implante es lograr el crecimiento de células epiteliales, tras determinados tipos de alteraciones, sobre la superficie ocular. (Moreno & Lorente, 2014). El procedimiento comienza con la retirada y limpieza de la superficie sobre la que se va a implantar la MA para eliminar cualquier resto de tejido necrótico, entre otros. A continuación, se coloca el injerto sobre el defecto, sin sobrepasarlo; tiene que encajar. (Meller et al., 2011; Moreno García & Lorente Moore, 2014; Ortega Molina et al., 2014). La orientación del mismo cobra una gran importancia en este tipo de implante porque actúa como sustrato para la migración, adhesión y crecimiento del epitelio. Esto solo puede ocurrir sobre la membrana basal por lo que, tiene que depositarse con esta hacia arriba para que las células epiteliales se adhieran sobre ella. Los efectos naturales de la MA son de ayuda en el proceso de curación: reducirá inflamación, neovascularización y favorecerá la reepitelización. (Meller et al., 2011; Moreno García & Lorente Moore, 2014; Ortega Molina et al., 2014). Se fija con suturas de Nylon 10-0 (Meller et al., 2011; Ortega Molina et al., 2014) o con pegamento biológico, Tissucol. (Moreno & Lorente, 2014). Es posible que el injerto persista durante años sobre la superficie ocular. (Burman et al., 2004). Puede ser usado en deficiencia limbal total o parcial, defectos epiteliales persistentes, causticaciones, síndrome de Stevens – Johnson, queratopatía bullosa y en banda. (Gris Castellón, 2004).

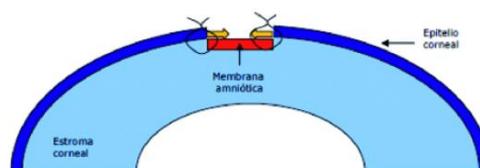


Figura 7. Implante tipo "Inlay". (Ortega Molina et al., 2014).

- *Onlays* o recubrimiento (Figura 8): su finalidad es proteger la superficie dañada impidiendo la entrada de agentes infecciosos o factores inflamatorios. Sus características naturales ayudan a reducir la inflamación y la vascularización. Su finalidad no es favorecer el crecimiento epitelial sobre él, sino proteger la herida e impedir que existan causas que impidan la normal reepitelización del defecto. (Gris Castellón, 2004). Es por ello que se suele adaptar con la membrana basal hacia abajo impidiendo el crecimiento de células epiteliales sobre la superficie del tejido, aunque en muchas ocasiones no se tenga en cuenta la orientación. Sus dimensiones son más amplias que las del injerto, cubriendo toda o gran parte de la superficie ocular (no se limita al perímetro del defecto). Es lo más parecido a una lente de contacto biológica y, al igual que la técnica anterior, se sutura para mantenerlo adherido al ojo. Puede ser usado en: fases agudas de causticaciones o síndrome de Stevens – Johnson y en la prevención de cicatrices después de PRK o queratectomía fototerapéutica (PTK). (Gris Castellón, 2004).

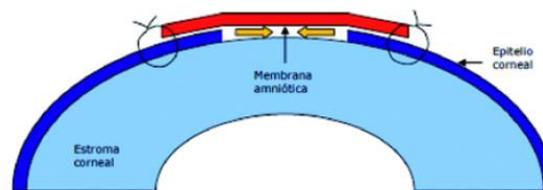


Figura 8. Implante tipo "Onlays". (Ortega Molina et al., 2014).

- Multicapa (Figura 9): el objetivo de esta técnica es, principalmente, rellenar un defecto corneal importante. (Burman et al., 2004; Ortega Molina et al., 2014). Se utilizan varias capas de MA que se aplican por medio de la técnica del injerto y, sobre estas, se superpone otra más con la técnica del recubrimiento con el fin de proteger los injertos y el defecto. De esta manera se favorece el crecimiento epitelial y se evita la inflamación y la vascularización. (Burman et al., 2004; Ortega Molina et al., 2014). Está indicado en perforaciones corneales, adelgazamiento corneal y descematocele. (Ortega Molina et al., 2014).

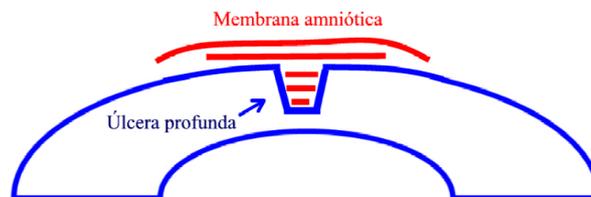


Figura 9. Implante tipo "multicapa". (Peris, 2004).

### 1.3.4. OBTENCIÓN DE LA MEMBRANA AMNIÓTICA

La placenta es obtenida, normalmente, a través de cesárea lectiva. Previamente se realiza un seguimiento exhaustivo de la donante para asegurar que su estado de salud es el idóneo. (Aranda Yus et al., 2006; Ortega Molina et al., 2014).

Las condiciones por las cuales hay que excluir a las donantes del proceso de selección son embarazos no controlados o con alteraciones, evidencias de infección en el neonato, fiebre materna superior a 38°C, periodo gestacional inferior a 34 semanas o bolsa rota más de 12 horas antes del parto. Una vez obtenida la placenta, debe de mantenerse en condiciones de total esterilidad. (Aranda Yus et al., 2006).

Es posible usar MA de placentas obtenidas por medio de partos vaginales, sin embargo, albergan un alto contenido de colonias bacterianas, naturales de la flora vaginal (herpes o Chlamydia Trachomatis) u otras que dificultarían o imposibilitarían el uso de estas MA. En estos casos, son necesarios resultados maternos satisfactorios en citologías y pruebas serológicas. (Aranda Yus et al., 2006; Gris Castellón, 2004).

Es preciso realizar un estudio serológico de la paciente, antes y después del parto (entre los 2 y 3 meses posteriores) para descartar la existencia de enfermedades que pueden afectar, tanto al feto como a la composición de la placenta. (Aranda Yus et al., 2006; Gris Castellón, 2004). Al tratarse de una paciente viva, es imprescindible cubrir el periodo ventana, asegurando, con una prueba después del parto, la inexistencia del desarrollo de alguna enfermedad. Esta prueba serológica o el procedimiento de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) está encaminada a detectar (Aranda Yus et al., 2006; Gris Castellón, 2004):

- Anticuerpos del Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH). (Aranda Yus et al., 2006; Gris Castellón, 2004).
- Anticuerpos del Virus de la Hepatitis B (VHB). (Aranda Yus et al., 2006; Gris Castellón, 2004).
- Anticuerpos del Virus de la Hepatitis C (VHC). (Aranda Yus et al., 2006; Gris Castellón, 2004).
- Serología luética (sífilis). (Aranda Yus et al., 2006; Gris Castellón, 2004).
- Anticuerpos de Citomegalovirus. (Aranda Yus et al., 2006; Gris Castellón, 2004).

### 1.3.5. PREPARACIÓN Y CONSERVACIÓN

Una vez obtenida la placenta, se limpia y se prepara en condiciones de esterilidad bajo un flujo de aire laminar y con solución salina balanceada que contiene 50 µg/ml de *Estreptomicina*, 100

$\mu\text{g/ml}$  de *Neomicina* y  $2.5 \mu\text{g/ml}$  de *Anfotericina B*. Por último, se separa el amnios del corion (Burman et al., 2004; Ortega Molina et al., 2014).

Existen diferentes métodos de conservación:

- Criopreservación: es el más usado. Cuando se obtiene el amnios, se fragmenta y se apoya sobre un papel de nitrocelulosa con la cara epitelial hacia arriba. Se guardan junto con solución crioprotectora (glicerol al 50%, eusol, alcohol al 76% o dimetilsulfóxido [DMSO]) a  $-80^{\circ}\text{C}$ . De esta manera se permite su preservación hasta 5 años. (Ortega Molina et al., 2014).
- Liofilización: con esta técnica se elimina toda el agua de la MA. Cuando se separa el amnios, se somete a un proceso de desecación por vacío a bajas temperaturas. Posteriormente se fragmenta y, sobre él, se aplica radiación gamma a  $25\text{kGy}$ . (Ortega Molina et al., 2014). Esto permite obtener tejidos totalmente estériles, más finos que los obtenidos después de procesos de criopreservación y la posibilidad de mantenerlos a temperatura ambiente. Sin embargo es una técnica poco usada. (Ortega Molina et al., 2014).
- MA fresca: los resultados son similares a los obtenidos con MA criopreservada. Sin embargo, el riesgo de transmisión de enfermedades es más alto. Es por ello que existen pocas MA frescas en uso como tratamiento quirúrgico. (Ortega Molina et al., 2014).

### 1.3.6. INDICACIONES

- Alteraciones en conjuntiva:
  - o Reconstrucción conjuntival. (Ortega Molina et al., 2014).
  - o Pterigium (Burman et al., 2004): el pterigium es una parte de la conjuntiva bulbar que crece sobre la córnea, de manera anormal, invadiéndola. (Burman et al., 2004). (Figura 10).
  - o Escisión de tumores conjuntivales. (Burman et al., 2004).
  - o Simbléfaron (Burman et al., 2004): unión total o parcial de la conjuntiva tarsal a la bulbar. (Burman et al., 2004).
  - o Queratoconjuntivitis cicatrizante (Burman et al., 2004; Moreno García & Lorente Moore, 2014): inflamación conjuntival crónica. Está acompañada de la cicatrización, adelgazamiento, ulceración y, finalmente, perforación de la córnea. (Burman et al., 2004).



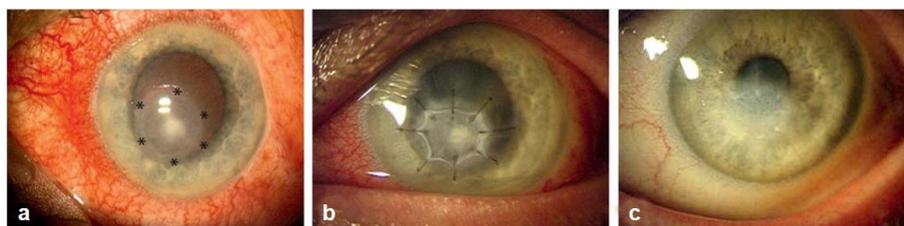
*Figura 10. Cirugía de pterigium y posterior implante de MA. (Aranda Yus et al., 2006).*

- Alteraciones en córnea:

- Defectos epiteliales persistentes (Burman et al., 2004): imposibilidad de cicatrización y curación de un defecto corneal dentro de unos límites temporales normales, incluso con ayuda terapéutica. (Vaidyanathan et al., 2019).
- Úlceras corneales. (Ortega Molina et al., 2014). (Figura 11).
- Insuficiencia de células limbares: total o parcial. (Burman et al., 2004).
- Queratopatía bullosa (Burman et al., 2004): es desencadenada por una deficiencia de células endotelial. Son incapaces de llevar a cabo la función reguladora del contenido de agua de la córnea degenerando en un edema corneal y bullas epiteliales. (Burman et al., 2004).
- Queratopatía en banda (Burman et al., 2004): degeneración corneal crónica caracterizada por la acumulación de depósitos de calcio en las capas más superficiales de la córnea. (Mansour & Haddad, 2016).
- Perforación corneal. (Ortega Molina et al., 2014).
- Necrólisis epidérmica tóxica aguda (Alemañy González & Camacho Ruaigip, 2006) y Síndrome de Stevens - Johnson (Ortega Molina et al., 2014): ambas son reacciones adversas inducidas por la ingesta de fármacos. (Chang et al., 2020). A nivel ocular provocan inflamación palpebral, ojo seco, simbléfaron, conjuntivitis, defectos epiteliales (que desembocan en perforaciones corneales o queratitis infecciosa) y deficiencia de células madre del limbo, entre otros. (Chang et al., 2020).
- Síndrome de Sjögren (Ortega Molina et al., 2014): enfermedad autoinmune que provoca la atrofia de las glándulas encargadas de secretar saliva (xerostomía) y

lágrimas. A nivel ocular, producen ojo seco severo incluyendo, ardor, escozor, dolor y sensación de cuerpo extraño. (Baer & Walitt, 2018).

- Distrofias y degeneraciones corneales. (Ortega Molina et al., 2014).
- Láser excímer (Burman et al., 2004; Moreno García & Lorente Moore, 2014): tras PRK o PTK. (Burman et al., 2004).



*Figura 11. Implante de MA en úlcera infecciosa: A) después de la cirugía. B) Tres días después. C) Tres meses después. (Meller et al., 2011).*

- Cultivo de células madre ex-vivo. (Burman et al., 2004).

### 1.3.7. CONTRAINDICACIONES

Las características de la MA hacen que, cuando se usa como injerto, facilite la reepitelización y curación de las heridas. No se puede confundir con el reemplazamiento de los tejidos. Es por ello que, en alteraciones severas donde es preciso un trasplante, la eficacia del injerto de MA es muy limitado y puede no proporcionar los resultados esperados. (Aranda Yus et al., 2006; Gris Castellón, 2004; Mamede & Botelhoeditors, 2015). Un ejemplo de ello sería la deficiencia total de células madre del limbo esclero-corneal: la MA, por sí sola, es incapaz de sustituir la inexistencia de células, sin embargo, acompañada de un implante limbal, puede estimular y acelerar el crecimiento de células en ese lugar. (Aranda Yus et al., 2006; Gris Castellón, 2004; Mamede & Botelhoeditors, 2015).

No es conveniente este tipo de implante en anomalías palpebrales (Mamede & Botelhoeditors, 2015) y condiciones inflamatorias descontroladas. (Aranda Yus et al., 2006; Gris Castellón, 2004; Mamede & Botelhoeditors, 2015).

En situaciones donde la esterilidad de la MA no esté asegurada, la donante padezca algún tipo de enfermedad infecciosa o haya existido alguna irregularidad durante el embarazo, que ponga en duda la seguridad en el uso del implante, se evitará el empleo del mismo. (Mamede & Botelhoeditors, 2015).

### 1.3.8. ASPECTOS ÉTICOS

Para la adquisición de MA, es necesario proporcionar un consentimiento informado a la donante informándole de las condiciones que tiene que reunir para ser apta en la aportación del tejido, además de los fines para los que puede ser usado. Este formulario debe de ser leído y, en caso de estar conforme, firmado por la donante. (Gris Castellón, 2004). La donación es voluntaria y se mantiene en total confidencialidad. (Junta de Andalucía, 2006).

También sería necesario un consentimiento información para la obtención de muestras sanguíneas para realizar estudios serológicos con el fin de descartar la existencia de enfermedades o situaciones que pueden poner en peligro la salud de la donante y del feto, además de la integridad de la placenta. (Junta de Andalucía, 2006).

### 1.3.9. FORMAS DE DISTRIBUCIÓN COMERCIAL

Actualmente es posible encontrar la MA en distintos formatos. El más conocido, y el que más se usa en los estudios revisados en este trabajo, son los de la compañía *Biotissue*.

Las formas comercializadas por este grupo son las siguientes:

- *Prokera*

Se tratan de estructuras similares a unas lentes de contacto que traen incorporada la MA. (Figura 12). Son de diámetros mayores a las lentes convencionales (22mm, aproximadamente) y están indicadas en síndrome de ojo seco, queratopatía por exposición, queratitis filamentaria, queratitis infecciosa, defecto epitelial corneal persistente neurotrófico, erosión corneal recurrente, úlceras corneales y quemaduras químicas. Estas promueven la reepitelización a la vez que reducen considerablemente la inflamación, promoviendo un proceso curativo más temprano. (Tissuetech, 2021).

El más usado es *Prokera clásico*. Es un anillo simbléfaron forrado con MA. Una vez insertado, la MA se disuelve mientras se lleva a cabo el proceso de curación. (Tissuetech, 2021).

Lo ideal de este tipo de dispositivo es la posibilidad de aplicar MA sin necesidad de suturas lo que va a facilitar, en gran medida, la recuperación postoperatoria. (Ortega Molina et al., 2014).



Figura 12. Prokera.

- *AmnioGraft*

Injerto de MA que, al igual que *Prokera*, promueven la reepitelización a la vez que reducen, considerablemente, la inflamación, promoviendo un proceso curativo más temprano. Para usarlo, se separa del papel de nitrocelulosa sobre el que descansa y se aplica sobre la superficie ocular. Está disponible con forma cuadrada y en varios tamaños. Normalmente, el lado estromal de la MA es el que está en contacto con la hoja soporte. (Tissueteck, 2021).

Está indicado en úlceras corneales, pterigium, ojo seco mecánico, escisión de tumores, quemaduras químicas y Síndrome de Stevens-Johnson. (Tissueteck, 2021).

La constante innovación en el campo de la oftalmología y el amplio rango de beneficios que se pueden aprovechar del uso de la MA para el tratamiento de diversas patologías (tratándose, en muchas de ellas, del único método eficaz de tratamiento) posibilita la utilización alternativa de este tejido en el periodo postquirúrgico de la PRK

## 2. OBJETIVOS

El objetivo principal del trabajo es el estudio de la aplicación de la membrana amniótica para tratar diferentes alteraciones de la superficie ocular, detallando su utilidad en procesos de corrección de ametropías, más concretamente, la queratectomía fotorrefractiva.

Para alcanzarlo, es necesario definir los siguientes objetivos secundarios:

- Resumir los resultados de los estudios existentes en la literatura científica sobre el uso de la membrana amniótica para tratar alteraciones de la superficie ocular, entre ellas, la situación postquirúrgica después de la queratectomía fotorrefractiva.
- Discutir la eficacia del uso de la MA en oftalmología para alcanzar conclusiones.

### 3. METODOLOGÍA

El estudio es del tipo “revisión bibliográfica”. Para su elaboración se han seleccionado artículos de revistas científicas, libros y estudios experimentales de distintas bases de datos, tales como: *PubMed*, *Scopus*, *Google Scholar*, *Web Of Science* y *Clinical Trials*. La búsqueda del material se llevó a cabo a través del *catálogo fama* ofrecido por la *Universidad de Sevilla*.

Fue necesaria la inclusión de búsqueda de artículos a través de *Google Scholar*, a pesar de no ser una base de datos científica fiable, por la escasez de estudios útiles encontrados en el resto de bases de datos.

Se usaron palabras clave en inglés para elaborar la estrategia de búsqueda debido a que la gran mayoría de bases de datos científicas funcionan bajo estos criterios.

La búsqueda se ha realizado relacionando términos por medio de conectores como OR, NOT y AND con el fin de acotar el número de resultados y que estos trataran temas más apropiados para este trabajo.

La estrategia de búsqueda elegida para comenzar la selección de los elementos que serían necesarios para alcanzar los objetivos de este trabajo fue:

(Amniotic membrane OR amniotic fluid) AND (Photorefractive keratectomy OR PRK OR corneal surgery OR healing treatment OR corneal haze) NOT contact lens NOT intraocular surgery.

Con ella se obtuvo la información principal de la que va a tratar este estudio. Se recopilaron 132 referencias. Del total se seleccionaron 16 después de llevar a cabo un cribado que excluía:

- Procesos in vitro.
- No tratan el tema elegido.
- Tratamientos combinados.
- Membrana amniótica como cultivo de células madre.
- Edad pediátrica.
- Tratamiento de enfermedades/síndromes atípicos.
- Comparaciones.
- Estudios concretos (ejemplo: “Trasplante de MA en úlceras neurotróficas”).
- Alteraciones conjuntivales.
- Inaccesibles.

Además se buscó la terminología básica necesaria a la que hará referencia la introducción.

## 4. RESULTADOS

El proceso de selección de los artículos que han sido necesarios para la elaboración de este trabajo se muestra en el diagrama de flujo de la Figura 13. Se incluyeron un total de 16 artículos que se pueden diferenciar entre revisiones bibliográficas (10 artículos) y trabajos experimentales (6 artículos).

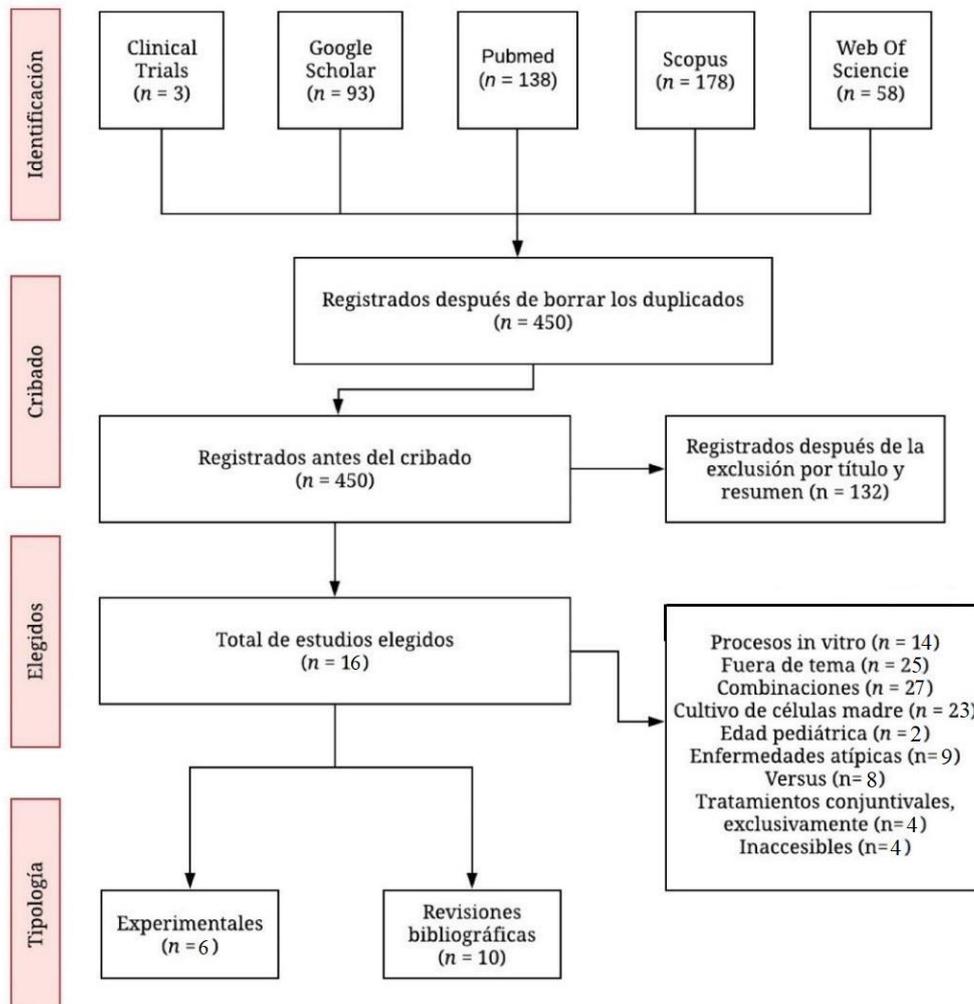


Figura 13. Diagrama de flujo.

Todos ellos son series de casos con, al menos, 39 pacientes o 30 animales que se sometieron a diferentes procesos quirúrgicos. Los trabajos de Cox y Vlasov (Cox et al., 2020; Vlasov et al., 2016) son los únicos que reportan el nivel de AV alcanzado por los sujetos antes de someterse al procedimiento quirúrgico. Esta es de 20/20 (escala Snellen) en visión lejana. Las características de los pacientes, del estudio y de la MA se recopilan en la Tabla 1 y la Tabla 2.

**Tabla 1. Características de los pacientes y del estudio**

| AUTOR                      | DURACIÓN (MESES) | PACIENTES    | EDAD             | TIPO DE CIRUGÍA         | INFORMACIÓN ADICIONAL DEL ESTUDIO                          |
|----------------------------|------------------|--------------|------------------|-------------------------|--|
| (Park & Tseng, 2000)       | NR               | 30 (conejos) | NR               | PRK                     | Comparación con aplicación de sangre y suturas             |
| (Prabhasawat et al., 2000) | 3-29             | 78           | 46.6 años        | Depende de la patología | Es usada cuando los tratamientos principales no funcionan. |
| (H. K. Lee et al., 2004)   | 6                | 84           | 26.53 años ± 5.9 | LASEK                   | Se comparó con un grupo control                            |
| (Xiao et al., 2014)        | 2                | 40 (conejos) | NR               | PRK y PTK               | NR   |
| (Vlasov et al., 2016)      | 12               | 40           | 30.2 años ± 6.8  | PRK                     | Se comparó con LC terapéutica                              |
| (Cox et al., 2020)         | 6                | 39           | 30 años ± 6.8    | PRK                     | Se comparó con LC terapéutica                              |

NR: no reportado; PRK: queratectomía fotorrefractiva; PTK: queratectomía fototerapéutica; LASEK: queratomileusis subepitelial asistida con láser; LC: lente de contacto.

**Tabla 2. Características de la MA**

| AUTOR                      | FINALIDAD DEL USO DE MA   | MEMBRANA         |  |
|----------------------------|---|------------------|--|
|                            |   | PRESERVACIÓN     | IMPLANTE   |
| (Park & Tseng, 2000)       | Modulación inflamación y muerte de queratocitos tras PRK                          | Criopreservación | Recubrimiento (epitelio hacia arriba)                        |
| (Prabhasawat et al., 2000) | Reconstrucción de la superficie ocular  | Criopreservación | Depende de la patología (Tabla 5)                            |
| (H. K. Lee et al., 2004)   | Reepitelización y ↓haze   | Criopreservación | Tiras sobre el limbo esclero-corneal (epitelio hacia arriba) |
| (Xiao et al., 2014)        | Reepitelizante, antiinflamatorio y ↓haze  | Criopreservación | Recubrimiento (epitelio hacia arriba)                        |
| (Vlasov et al., 2016)      | Reepitelización   | Criopreservación | Prokera (lente de contacto con MA)                           |
| (Cox et al., 2020)         | Antiinflamatorio, reepitelizante, ↓densitometría, ↓haze, ↓apoptosis queratocitos. | Criopreservación | Prokera (lente de contacto con MA)                           |

Los resultados de los trabajos revisados se resumen en la Tabla 3. En la mayoría de los casos, la AV se mantiene estable hasta el final del estudio, alcanzando el 100% de visión. También se exponen las complicaciones sucedidas durante el proceso, que fueron muy variables. En los

trabajos experimentales donde se usan conejos, se desconocen las dificultades que puede haber provocado la aplicación de MA porque se sacrificaron tras la realización de PRK.

El éxito y las conclusiones alcanzadas en cada proceso se indican en la Tabla 3 y Tabla 4, respectivamente. Todos reportan un éxito aceptable y los autores no contraindican su uso salvo en los casos en los que se usó Prokera en PRK. Por unanimidad coinciden en la necesidad de proseguir con la investigación de las distintas aplicaciones que se le pueden dar a la MA y, especialmente, para obtener resultados más concluyentes.

**Tabla 3. Resultados**

| AUTOR                      | AV<br>DESPUÉS DE<br>MA            | COMPLICACIONES (en MA)   | ÉXITO |
|----------------------------|-----------------------------------|--|-------|
| (Park & Tseng, 2000)       | NR                                | NR   | 100%  |
| (Prabhasawat et al., 2000) | Depende de la patología (Tabla 5) | 2 casos: desprendimiento de MA<br>1 caso: conjuntivitis, abscesos palpebrales y entropión<br>3 casos: úlceras corneales<br>3 casos: perforaciones corneales  | 75%   |
| (H. K. Lee et al., 2004)   | 20/20 (85% de los casos)          | NR   | 100%  |
| (Xiao et al., 2014)        | NR                                | NR   | 100%  |
| (Vlasov et al., 2016)      | 20/20 o mejor (a los 12 meses)    | 1 caso: extrusión espontánea del injerto<br>1 caso: cicatrización epitelial tardía<br>2 casos: defectos epiteliales persistentes<br>4 casos: infiltrados corneales<br>1 caso: uveítis anterior granulomatosa | 0%    |
| (Cox et al., 2020)         | NR                                | Trauma mecánico por anillo conformador. En consecuencia, reepitelización tardía.<br>↑Densitometría   | 0%    |

**Tabla 4. Conclusiones.**

| AUTORES                    | CONCLUSIÓN (USO DE MA)                                    | AUTOR: A FAVOR O EN CONTRA |
|----------------------------|---|----------------------------|
| (Park & Tseng, 2000)       | ↓infiltración de leucocitos PMN y ↓apoptosis queratocitos | Se necesitan más estudios  |
| (Prabhasawat et al., 2000) | ↓Inflamación, ↓irritación ocular y ↑reepitelización       | A favor                    |
| (H. K. Lee et al., 2004)   | ↑reepitelización y ↓haze.                                 | A favor.                   |
| (Xiao et al., 2014)        | ↑Reepitelización, ↓inflamación y ↓haze.                   | Se necesitan más estudios  |

|                              |   |             |
|------------------------------|---|-------------|
| <b>(Vlasov et al., 2016)</b> | La finalidad es discutible                              | “En contra” |
| <b>(Cox et al., 2020)</b>    | No fue lo suficientemente efectiva con respecto a la LC | “En contra” |
| PMN: polimorfonucleados      |   |             |

Se lleva a cabo la revisión del estudio del uso de MA como tratamiento alternativo en alteraciones de la superficie ocular cuando estas no responden favorablemente al procedimiento tradicional. A continuación, en la Tabla 5, se presentan las características del trabajo. El éxito obtenido, en la mayoría de casos, es alto.

*Tabla 5. Características del estudio de Prabhasawat (Prabhasawat et al., 2000).*

| PATOLOGÍA  | Nº DE CASOS (OJOS) | TIPO DE IMPLANTE  | AV DESPUÉS DE MA                   | ÉXITO |
|--|--------------------|---|------------------------------------|-------|
| <b>Deficiencia limbar (1 y 2)</b>                            | 27                 | Implante de MA en esclera a 5-7mm del limbo                                     | *                                  | 66.7% |
| *Injerto de MA combinado CON trasplante limbar               | 12                 | Implante de MA en esclera a 5-7mm del limbo                                     | Desde movimiento de manos a 10/200 | 91.7% |
| *Injerto de MA SIN trasplante limbar                         | 15                 | Implante de MA en esclera a 5-7mm del limbo                                     | Se mantuvo o disminuyó 2 líneas    | 46.7% |
| <b>Queratopatía bullosa</b>                                  | 26                 | Recubrimiento sobre el defecto epitelial  | Se mantuvo                         | 92.3% |
| <b>Defecto epitelial persistente, Dellen y descemetocele</b> | 17                 | Recubrimiento sobre el defecto epitelial tras desepitelización de la misma zona | Empeoró                            | 100%  |
| <b>Queratopatía en banda</b>                                 | 11                 | Recubrimiento sobre el defecto epitelial  | Se mantuvo                         | 81.8% |
| <b>Prótesis</b>  | 1                  | NR  | Se mantuvo                         | 100%  |
| <b>Úlceras corneales</b>                                     | 1                  | Recubrimiento sobre el defecto epitelial tras desepitelización de la misma zona | Empeoró                            | 100%  |
| <b>Quemaduras químicas agudas</b>                            | 1                  | Recubrimiento sobre el defecto epitelial tras desepitelización de la misma zona | Se mantuvo                         | 0%    |

Los estudios de Prabhasawat y Lee (H. K. Lee et al., 2004; Prabhasawat et al., 2000) son los únicos artículos, de los revisados, que obtienen éxito en humanos. De los otros cuatro, solo se obtuvieron resultados satisfactorios en los que se usan conejos (dos de los cuatro trabajos).

## 5. DISCUSIÓN

### 5.1. TRATAMIENTOS COMUNES VS. APLICACIÓN DE MEMBRANA AMNIÓTICA

Los artículos revisados en este trabajo, destacan la necesidad de continuar con el estudio de las diferentes aplicaciones que se le puede dar al uso de MA. (Cox et al., 2020; H. K. Lee et al., 2004; Park & Tseng, 2000; Prabhasawat et al., 2000; Vlasov et al., 2016; Xiao et al., 2014).

Actualmente está estandarizado y es empleado en el tratamiento de diversas alteraciones de la superficie ocular (Prabhasawat et al., 2000). Sin embargo, su utilidad en la cicatrización y reducción del *haze* corneal después de cirugías refractivas es, aun, cuestionable: en este ámbito sigue siendo un tratamiento en fase experimental. (Cox et al., 2020; Vlasov et al., 2016). Es por ello que, en los sujetos ajenos a estudios, se usan los medios y tratamientos establecidos para subsanar los efectos y complicaciones postquirúrgicos. (Cox et al., 2020; Vlasov et al., 2016).

En los bancos de órganos y tejidos, la MA, no es abundante (Ortega Molina et al., 2014; Zahid et al., 2020), los métodos de conservación y transporte hacen más improbable la elección de este tejido como primera opción terapéutica (Zahid et al., 2020) y el sistema de aplicación no lo convierte en la mejor alternativa como tratamiento porque es un procedimiento invasivos (suturas de nylon), o puede producir daño mecánico (anillo simbléfaron). En estos casos se puede empeorar la situación (Prabhasawat et al., 2000) o no obtener los resultados satisfactorios que se esperan. (Cox et al., 2020; Vlasov et al., 2016).

Se puede decir que el uso de MA en el tratamiento de anomalías de la superficie ocular, está asentado. Sin embargo, no suele ser el primer método de elección debido a la inexperiencia en el uso e inexactitud de los resultados.

### 5.2. MEMBRANA AMNIÓTICA OBTENIDA A TRAVÉS DE PARTOS NATURALES VS. MEMBRANA AMNIÓTICA OBTENIDA A TRAVÉS DE CESÁREA.

La placenta, a partir de la cual se obtiene la MA, puede obtenerse de dos maneras: por cesárea o parto natural. La manera más usada, segura y eficaz sería la nombrada en primer lugar. El riesgo de roturas se reduce considerablemente además del de contaminación. (Aranda Yus et al., 2006; Jirsova & Jones, 2017).

La microbiota vaginal es el mayor hándicap en el uso de MA que ha sido obtenida a través de partos naturales. La cantidad de microorganismos de la flora vaginal, que pueden haberse transmitido a la placenta al pasar por el canal del parto, se incrementa considerablemente. (Aranda Yus et al., 2006; Burman et al., 2004; Jirsova & Jones, 2017).

Es preciso garantizar la seguridad del uso de la MA obtenida por medio de partos naturales a través de citologías y pruebas serológicas maternas que descarten la existencia de microorganismos. Además es obligatorio afianzar la esterilidad de la placenta y, posteriormente, de la MA. (Aranda Yus et al., 2006; Burman et al., 2004; Jirsova & Jones, 2017).

El uso de la MA obtenida por cesáreas es más seguro que las obtenidas a través de partos naturales. Aunque los métodos de preparación, limpieza y conservación sean capaces de mantener el tejido en estado de esterilidad, la probabilidad de que existan microorganismos resistentes en él, es mayor en aquellas membranas que son obtenidas a través de partos naturales.

### **5.3. CONSERVACIÓN DE LA MEMBRANA AMNIÓTICA: CRIOPRESERVADA VS. LIOFILIZADA VS. FRESCA.**

La criopreservación es el método de conservación más usado. Permite trabajar con MA esterilizadas (aunque no completamente) y con un tiempo de vida útil de hasta 5 años. (Burman et al., 2004; Ortega Molina et al., 2014). En los bancos de MA de Andalucía, es el método de conservación por excelencia. (Junta de Andalucía, 2006). (Figura 14).

Sin embargo, su uso a largo plazo puede tener efectos contraproducentes. Tras la descongelación, las células de la membrana se desvitalizan y se suspende su actividad enzimática. Este material se elimina después de aplicar la MA y, por ello es aconsejable reemplazarla cada cierto tiempo. (Meller et al., 2011). Otra desventaja sería la necesidad de mantenerla en frío, a  $-80^{\circ}\text{C}$ , hasta que pueda ser usada. (Junta de Andalucía, 2006; Ortega Molina et al., 2014).

La liofilización permite obtener membranas más finas, mantenidas a temperatura ambiente (facilitando el transporte de la misma) y 100% esterilizadas. La delgadez viene proporcionada por la eliminación de las fibras de colágeno, la capacidad para mantenerse almacenada a temperatura ambiente, por ser un material disecado y la total esterilidad, por el uso de radiación gamma que impide el crecimiento de cualquier microorganismo o similares. (Ortega Molina et al., 2014).

A pesar de gozar de amplias ventajas sobre el método de criopreservación, la MA liofilizada no es la más usada por cuestiones funcionales y de experiencia. Se necesitan de centros que cuenten con material especializado para su preparación y, la escasez de membranas y la falta de equipos, hacen que este proceso resulte muy dificultoso. (Ortega Molina et al., 2014).

Existe la posibilidad de usar membranas frescas. Su modo de acción y efecto es similar al de la MA criopreservada, sin embargo goza de más desventajas que la nombrada: la probabilidad de transmisión de enfermedades, por este método, es muy alta (Burman et al., 2004; Ortega Molina et al., 2014) y la preparación y conservación de la misma lo convierten en un método imposible. (Ortega Molina et al., 2014). El tiempo de vida útil se reduce y, ante la escasez de membranas, no

sería rentable mantener estos tejidos frescos porque pueden deteriorarse rápidamente. (Burman et al., 2004; Ortega Molina et al., 2014).

La criopreservación es el método de conservación por excelencia. De hecho, en todos los estudios revisados, ha sido el elegido. Aunque la liofilización y el uso de MA fresca aportan buenos resultados, implican otras necesidades que convierten, a la criopreservación, en un método más cómodo, a pesar de sus desventajas.

| Tejido                         | Almacenamiento                  | Caducidad      |
|--------------------------------|---------------------------------|----------------|
| Hueso                          | Congelador eléctrico a -80 °C   | 5 años         |
| Tendones/<br>Fascias/HTH       | Congelador eléctrico a -80 °C   | 5 años         |
| Cartílago                      | Tanque de nitrógeno líquido     | No definida    |
| Meniscos                       | Congelador eléctrico a -80 °C   | 5 años         |
| Válvulas                       | Tanque de nitrógeno             | No definida    |
| Vasos                          | Tanque de nitrógeno             | No definida    |
| Globo ocular                   | Refrigerador                    | 24 horas       |
| Córneas                        | - Refrigerador                  | de 7 a 15 días |
|                                | - En cultivo: 37 °C             | 30 días        |
|                                | - Congelada a -80 °C            | 5 años         |
|                                | - Criopreservada a -196 °C      | No definida    |
| Membrana<br>amniótica          | - Congelador eléctrico a -80 °C | 5 años         |
|                                | - Tanque de nitrógeno           | No definida    |
| Esclera                        | - Etanol absoluto a 4 °C        | 1 año          |
|                                | - Congelador eléctrico a -80 °C | 5 años         |
| Células progenitoras<br>de SCU | Tanque de nitrógeno             | No definida    |
| Piel                           | Tanque de nitrógeno             | No definida    |
| Paratiroides                   | Tanque de nitrógeno             | No definida    |

Figura 14. Almacenamiento de tejidos. (Junta de Andalucía, 2006)

## 5.4. ASPECTO ÉTICO DEL USO DE MEMBRANA AMNIÓTICA

La placenta es un órgano que, tras el parto, es desechado: al dar a luz se rompe, pierde calidad y dificulta la tarea de preparación. Con controles exhaustivos del embarazo, pruebas pertinentes que descarten la existencia de enfermedades maternas que puedan transferirse a la placenta y con el permiso de la donante, la placenta puede llegar a ser usada con fines terapéuticos. (Evans et al., 2018).

El permiso de la madre se obtiene a través del consentimiento informado: documento que se entrega al principio del embarazo y, a través del cual, la madre se compromete a donar la placenta tras el alumbramiento. En él se especifican las condiciones y procesos que se deben llevar a cabo con el fin de obtener una placenta en óptimas condiciones y que pueda ser útil. (Gris Castellón, 2004).

No obstante, el convenio es bidireccional. Tanto la parte donante como la sanitaria profesional, se comprometen a: (Aguirre-Gas, 2004; García-Vigil & García-Mangas, 2011)

- Donar la placenta con fines terapéuticos o para la investigación. (Aguirre-Gas, 2004; García-Vigil & García-Mangas, 2011).

- Cumplir el acuerdo y hacer uso de la MA, exclusivamente, para la razón por la que fue donada. (Aguirre-Gas, 2004; García-Vigil & García-Mangas, 2011).

Existen un conjunto de principios éticos médicos que obligan, a estos profesionales, a cumplir lo afirmado anteriormente. Estos principios son los siguientes (Figura 15):

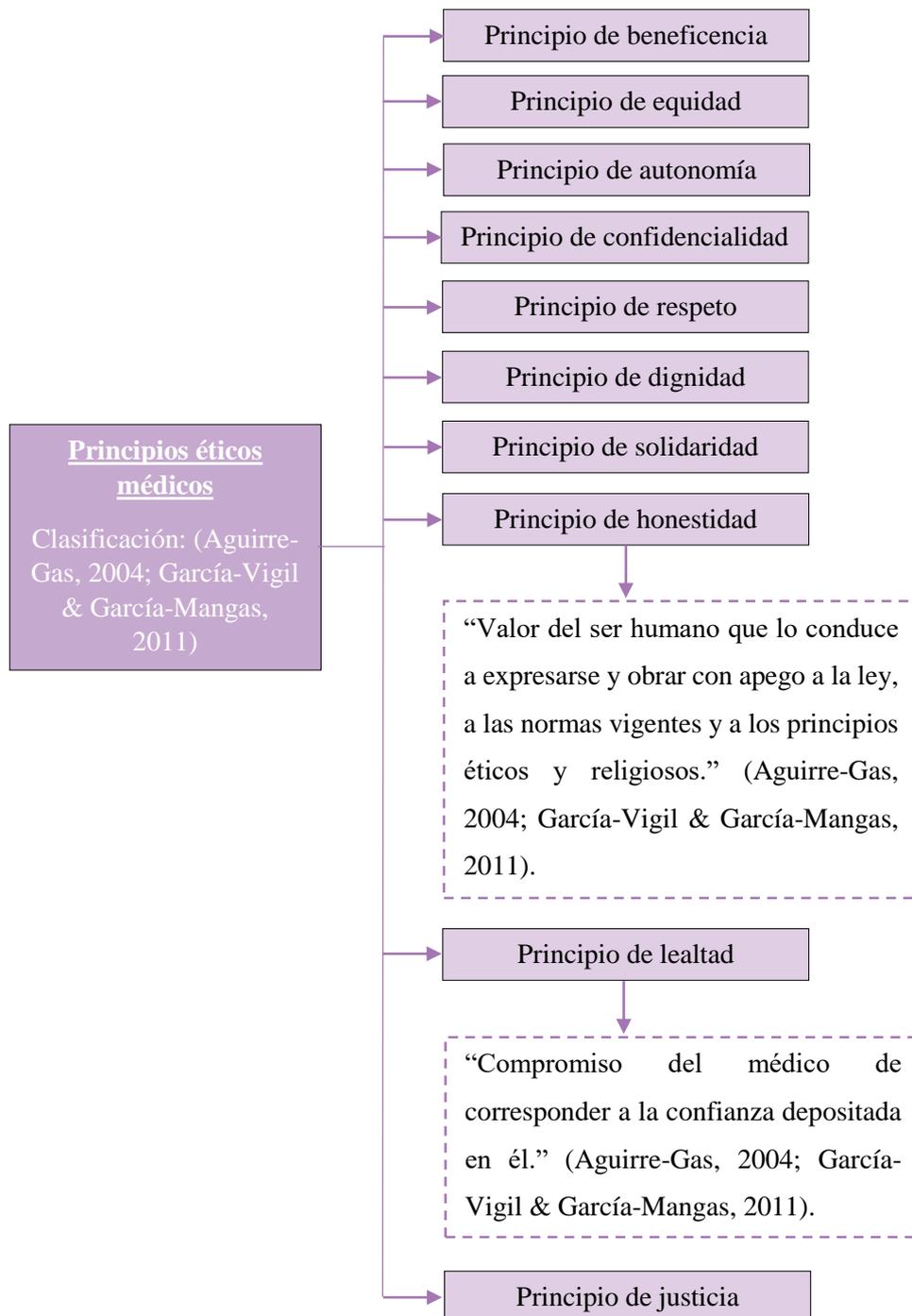


Figura 15. Principios éticos médicos

## 5.5. USO DE LA MEMBRANA AMNIÓTICA EN HUMANOS: EL ÉXITO EN ALTERACIONES DE LA SUPERFICIE OCULAR VS. EL FRACASO DESPUÉS DE PRK.

Durante la realización de esta revisión se ha observado que el uso de MA, para tratar patologías de la superficie ocular, estaba más extendida que como tratamiento cicatrizante después de PRK. Un indicativo de ello es la escasez de estudios experimentales del uso de MA en PRK, ya sea en humanos o en animales.

Los resultados obtenidos en el estudio de Prabhasawat (Prabhasawat et al., 2000) son satisfactorios, como se puede observar en la Tabla 5. La conclusión alcanzada en ese artículo confirma que, el uso de MA para tratar alteraciones de la superficie ocular es beneficioso, especialmente, porque no se necesitan tratamientos inmunosupresores previos a su aplicación ya que, este tejido, induce una mínima inmunogenicidad. Sin embargo, recalca que son necesarias más investigaciones para conocer otros usos clínicos de la MA. (Prabhasawat et al., 2000).

En los artículos de Cox (Cox et al., 2020) y Vlasov (Vlasov et al., 2016) no ocurre lo mismo. A pesar de alcanzar los objetivos que se plantean al inicio de cada estudio, los resultados se ven afectados por algunos acontecimientos relevantes.

En el trabajo de Cox (Cox et al., 2020), la membrana es capaz de producir una rápida reepitelización. Sin embargo, los resultados de la densitometría (prueba que muestra las opacidades corneales) son altos. Según Cox (Cox et al., 2020), puede ser así por la retirada de epitelio cuando se elimina la MA. La importancia de esta prueba reside en la probabilidad de desarrollo de *haze* corneal: cuanto más alta es la densitometría, más probabilidad existe de que se produzca *haze*. Además, en algunos pacientes, la reepitelización después de la PRK es ligeramente más lenta porque el anillo simbléfaron (en el que se depositaba la MA) puede producir daños mecánicos. Estos sucesos ponen en duda la eficacia de la MA, alzando la eficiencia de las LC terapéuticas. (Cox et al., 2020).

En el artículo de Vlasov (Vlasov et al., 2016) insisten en los pocos beneficios que se obtienen del uso de la MA tras PRK con respecto a la adaptación de LC terapéuticas. La reepitelización, en el primer caso, no es lo suficientemente rápida como para que este tejido pueda llegar a sustituir a las LC. Al igual que en el estudio anterior, esto puede haberse producido por el trauma mecánico que genera el anillo simbléfaron en el que se desposita la MA. El malestar también era mayor. (Vlasov et al., 2016).

Ambos estudios coinciden en la referencia al trabajo de Lee (H. K. Lee et al., 2004), en el que la aplicación de tiras de MA en el limbo esclero-corneal brinda todos los beneficios que se pueden

obtener de ella sin las complicaciones sobrevenidas a partir del anillo simbléfaron. (Cox et al., 2020; H. G. Lee et al., 2004; Vlasov et al., 2016).

Aunque las propiedades de la MA enmarquen a la misma como un método de tratamiento ideal en el postoperatorio de PRK, todo apunta a que no lo es. Los medios actuales, como LC para favorecer la reepitelización y el uso de antibióticos para reducir el *haze* corneal, proporcionan mejores resultados que el tejido estudiado. Los anillos de simbléfaron pueden contribuir a la recepción de malos resultados en estos casos porque producen daño mecánico. Sin embargo, para alteraciones de la superficie ocular, el uso de la MA sí está “recomendado” porque se conoce que, de las mismas, se obtienen resultados satisfactorios.

### **5.5.1. APLICACIÓN DE MEMBRANA AMNIÓTICA DESPUÉS DE PRK: SOBRE LA ÚLCERA VS. LIMBO ESCLERO-CORNEAL.**

Existe una clara diferencia entre los resultados obtenidos de los estudios de Cox y Vlasov (Cox et al., 2020; Vlasov et al., 2016), donde se usa Prokera, y el de Lee (H. K. Lee et al., 2004), que aplica tiras de MA en el limbo esclero-corneal y, posteriormente, las sutura.

Los resultados de este último, a pesar de ser un método más desfavorable por el uso de suturas, son satisfactorios con respecto a los casos donde se ha utilizado Prokera. (Cox et al., 2020; H. G. Lee et al., 2004; Vlasov et al., 2016). El daño mecánico que producen estas lentes, podría impedir que de la MA se aprovecharan todos sus beneficios. (Cox et al., 2020; Vlasov et al., 2016).

En el estudio de Lee (H. K. Lee et al., 2004), el método de uso de la MA favorece la migración de células epiteliales al lugar afectado, además de ayudar a reducir la afectación del *haze* corneal. No se reportan complicaciones, por lo que se puede pensar que estas no tuvieron importancia. Además se confirma la obtención de una buena AV pasados 6 meses. A pesar de que el uso del anillo simbléfaron, de los estudios de Cox y Vlasov (Cox et al., 2020; Vlasov et al., 2016), no tiene un efecto demasiado perjudicial, los inconvenientes aportados por Prokera o la incapacidad de alcanzar resultados satisfactorios obligan a los autores a replantearse la eficacia del tejido para con los fines definidos en cada artículo. (Cox et al., 2020; Vlasov et al., 2016).

El desuso de anillos simbléfaron puede mejorar los resultados obtenidos en los estudios. En el trabajo de Lee se demuestra la eficacia de la MA, aplicada en el limbo esclero-corneal después de LASEK. Es posible que los resultados obtenidos del uso de MA, colocada en el mismo lugar después de PRK, sean similares.

## 5.6. LÍNEAS FUTURAS DE INVESTIGACIÓN

Todos los estudios revisados insisten en necesidad de seguir investigando los diferentes usos o resultados que puede proporcionar la MA en diferentes situaciones. (Cox et al., 2020; H. K. Lee et al., 2004; Park & Tseng, 2000; Prabhasawat et al., 2000; Vlasov et al., 2016; Xiao et al., 2014). En relación con la ineficacia del tejido en PRK, se encuentra la explicación a este apartado.

Se observa en los estudios de Vlasov y Cox (Cox et al., 2020; Vlasov et al., 2016) que, a pesar de alcanzar algunos de los objetivos definidos, los beneficios obtenidos del empleo de MA con respecto a los métodos vigentes usados en la recuperación de la superficie corneal tras PRK, no son lo suficientemente extraordinarios como para usarla para este fin. (Cox et al., 2020; Vlasov et al., 2016).

Además, la falta de disponibilidad del tejido promueve el deshuso de MA después de cirugías refractivas siendo, los resultados obtenidos, similares a los del uso de LC terapéuticas, que también tienen finalidad protectora y cicatrizante. (Cox et al., 2020; Vlasov et al., 2016). Los resultados para la disminución del *haze* corneal tampoco fueron fructíferos. (Cox et al., 2020). La aplicación de antibióticos sigue siendo el método por excelencia en el tratamiento de esta complicación, propia de procesos de cirugía refractiva. (Franco Benito, 2011).

La continuación del estudio de la MA también puede responder a todas las preguntas y ambigüedades que se han planteado durante esta revisión.

## 5.7. EL USO DE LA MEMBRANA AMNIÓTICA Y EL SARS-CoV-2

La actual pandemia ha obligado al mundo a tomar medidas que adapten la forma “normal” de vida a la expansión de la enfermedad COVID-19. (Hattenbach et al., 2020). Esta ha golpeado duramente a los centros de atención primaria de todo el mundo, viéndose reducidos el número de intervenciones y aumentando las listas de espera. El estudio de Hattenbach (Hattenbach et al., 2020), realizado en los centros de atención oftálmica de Alemania asegura haber experimentado lo comentado con anterioridad. Entre ellos, el uso de MA ha experimentado una disminución de hasta el 59,1%. (Hattenbach et al., 2020).

En cuanto al proceso de donación, no se aceptaría el tejido de aquellos donantes que son o pudieran dar positivo en PCR. (Yeung et al., 2021).

El procesamiento de la MA es uno de los pasos más importantes del procedimiento, donde se asegura la eliminación de cualquier microorganismo o virus presente en este tejido que pueden afectar al paciente al que se le aplica. Se ha demostrado la capacidad que tiene el coronavirus para invadir las células amnióticas de la membrana provocando la infección del tejido. (Paggiaro et al., 2021). Además es capaz de conservarse en condiciones de baja temperatura por lo que, a pesar

de asegurar la total desinfección de la membrana, el método de criopreservación no sería un método válido. Sin embargo, no resiste a la acción de la radiación gamma usada en la liofilización. Es por esto que sería el método de conservación idóneo. (Paggiaro et al., 2021).

Existe una posible aplicación de la MA para la enfermedad respiratoria que, actualmente, acecha a toda la población del mundo. (Riedel et al., 2021). Se ha demostrado que las células del amnios reducen, considerablemente, la respuesta inflamatoria generada a raíz de una infección por coronavirus y ayuda a reconstruir las estructuras afectadas. Se trataría de una terapia celular. Aunque todavía se trate de una posibilidad que está en pleno desarrollo, los resultados obtenidos en modelos in vivo son muy prometedores. (Riedel et al., 2021).

## **6. LIMITACIONES Y FORTALEZAS**

La limitación principal que ha afectado a este trabajo ha sido la escasez de información que trata, específicamente, del tema principal del mismo. Esto obligó a ampliar el tema a tratar, no solo estudiando el uso de la MA como tratamiento cicatrizante en PRK, sino el uso de la MA en alteraciones de la superficie ocular.

Se incluyeron artículos experimentales en animales. Esto aumentó el volumen de referencias pero las conclusiones alcanzadas en dichos estudios no podían ser extrapolados a los seres humanos porque no se tenían en cuenta los mismos parámetros en unos y otros. Sin embargo, estas investigaciones ayudaron a conocer las propiedades de la MA.

La intención previa no era escoger estudios experimentales que se hubieran probado en animales debido a que los resultados podrían variar entre estos y los humanos. Las reacciones adversas o efectos que puede tener este tejido sobre animales puede ser diferente que en los humanos y, en estos últimos, juega un papel fundamental la percepción visual del paciente que ha recibido un implante de MA. En animales, además de no tenerse en cuenta porque eran sacrificados, esta percepción no se puede conocer. Aun así, se acabaron incluyendo estudios de este tipo por la falta de trabajos experimentales encontrados.

Una vez superados los obstáculos anteriormente mencionados, se contó una bibliografía rica en datos de interés para el desarrollo de este trabajo. A esto se le ha de añadir la visualización de contenido audiovisual interesante que ha servido como inspiración para enfocar la búsqueda de referencias.

## **7. CONCLUSIÓN**

El uso de membrana amniótica en oftalmología ha demostrado ser eficaz en deficiencias limbares, combinado con un trasplante limbar, queratopatía bullosa o defectos epiteliales persistentes, entre otros. Con el desarrollo de esta revisión se ha observado que podría no ser eficaz en la

recuperación de cirugías refractivas. Sin embargo, la verdadera razón a esta conclusión podría residir en la escasez de estudios que investiguen el uso de la membrana después de cirugías refractivas (más concretamente PRK). Además, en la mayoría de los existentes, los resultados no son concluyentes o no demuestran ofrecer amplias ventajas con respecto a los tratamientos ya asentados. Por ello es necesaria la ampliación del número de líneas de investigación acerca de la eficacia del uso de la membrana amniótica, como método cicatrizante, en cirugías refractivas para poder conseguir un consenso entre las distintas opiniones y concretar qué método de aplicación y para qué casos sería más efectiva.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre-Gas, H. G. (2004). Principios éticos de la práctica médica. *Cirugía y Cirujanos*, 72(6), 503–510.
- Alemañy González, J., & Camacho Ruaigip, F. (2006). Usos de la membrana amniótica humana en oftalmología. *Revista Cubana de Oftalmología*, 19(1), 0–0.
- Aranda Yus, A., Vazquez Dorrego, X., Diaz Couchoud, P., & Fontenla Garcia, J. R. (2006). Aplicaciones de la membrana amniótica en oftalmología. *Laboratorios Thea*, 22.
- Baer, A. N., & Walitt, B. (2018). Update on Sjögren Syndrome and Other Causes of Sicca in Older Adults. *Rheumatic Diseases Clinics of North America*, 44(3), 419–436.
- Barberán Bernardos, L. (2020). *Trabajo Fin de Grado Estudio de las propiedades biomecánicas de la córnea humana*.
- Burman, S., Tejwani, S., Vemuganti, G. K., Gopinathan, U., & Sangwan, V. S. (2004). Ophthalmic applications of preserved human amniotic membrane: A review of current indications. *Cell and Tissue Banking*, 5(3), 161–175.
- Cernák, A., Sisková, E., Pont'uchová, E., & Potocký, M. (1996). Excimer laser photorefractive keratectomy in myopia. *Ceská a Slovenská Oftalmologie : Casopis České Oftalmologické Společnosti a Slovenské Oftalmologické Společnosti*, 52(2), 67–72.
- Chang, W.-C., Abe, R., Anderson, P., Anderson, W., Ardern-Jones, M. R., Beachkofsky, T. M., et al. (2020). SJS/TEN 2019: From science to translation. *Journal of Dermatological Science*, 98(1), 2–12.
- Cox, A. R., Sia, R. K., Purt, B., Ryan, D. S., Beydoun, H., Colyer, M. H., et al. (2020). Assessment of corneal haze after prk and the effect of sutureless amniotic membrane graft by corneal densitometry. *Journal of Refractive Surgery*, 36(5), 293–299.
- DAVIS, JW. (1910). Skin transplantation with a review of 550 cases at the Johns Hopkins

- Hospital. *Johns Hopkins Med J*, 15, 307–396.
- de RÖTTH, A. (1940). PLASTIC REPAIR OF CONJUNCTIVAL DEFECTS WITH FETAL MEMBRANES. *Archives of Ophthalmology*, 23(3), 522–525.
- Evans, M. A., Broughton, B. R. S., Drummond, G. R., Ma, H., Phan, T. G., Wallace, E. M., et al. (2018). Amnion epithelial cells - a novel therapy for ischemic stroke? *Neural Regeneration Research*, 13(8), 1346–1349.
- Fielding Hejtmancik, J., & Nickerson, J. M. (2015). *Molecular Biology of Eye Disease*. Elsevier Science & Technology.
- Franco Benito, M. (2011). *Manual de Iniciación a la Cirugía del Segmento Anterior Ocular*.
- García-Vigil, J. L., & García-Mangas, J. (2011). Declaración de principios éticos del educador en medicina. *Historia Y Filosofía De La Medicina*, 49(5), 571–574.
- Gris Castellón, Ó. (2004). Transplante de membrana amniótica en patología de la superficie ocular. *Archivos de La Sociedad Canaria de Oftalmología*, 12, 101–107.
- Hattenbach, L.-O., Heinz, P., Feltgen, N., Hoerauf, H., Kohnen, T., Priglinger, S., et al. (2020). [Impacts of the SARS-CoV-2 pandemic on ophthalmic care in Germany]. *Der Ophthalmologe : Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft*, 117(9), 892–904.
- Jirsova, K., & Jones, G. L. A. (2017). Amniotic membrane in ophthalmology: properties, preparation, storage and indications for grafting—a review. *Cell and Tissue Banking*, 18(2), 193–204.
- Junta de Andalucía. (2006). *Anexo 1. Detección de donantes*. 1–9. Disponible en: [http://www.juntadeandalucia.es/salud/export/sites/csalud/galerias/documentos/p\\_3\\_p\\_3\\_pr ocesos\\_asistenciales\\_integrados/celulas\\_tejidos/08\\_anexos\\_celulas.pdf](http://www.juntadeandalucia.es/salud/export/sites/csalud/galerias/documentos/p_3_p_3_pr ocesos_asistenciales_integrados/celulas_tejidos/08_anexos_celulas.pdf)
- Kim, J. C., & Tseng, S. C. (1995). The effects on inhibition of corneal neovascularization after human amniotic membrane transplantation in severely damaged rabbit corneas. *Korean Journal of Ophthalmology : KJO*, 9(1), 32–46.
- Lee, H. G., Simao, J., Aspinwall, D. K., Dewes, R. C., & Voice, W. (2004). Electrical discharge surface alloying. *Journal of Materials Processing Technology*, 149(1), 334–340.
- Lee, H. K., Kim, J. K., Kim, S. S., Kim, E. K., Kim, K. O., Lee, I. S., et al. (2004). Effect of amniotic membrane after laser-assisted subepithelial keratectomy on epithelial healing: Clinical and refractive outcomes. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, 30(2), 334–340.

- Machado Fernández, E., Benítez Merino, M. del, & Díaz Parra, Y. (1999). Revisión y actualización en cirugía refractiva corneal. *Revista Cubana de Oftalmología*, 12(2), 0–0.
- Mamede, A. C., & Botelhoeditors, M. F. (2015). Amniotic membrane: Origin, characterization and medical applications. In *Amniotic Membrane: Origin Characterization and Medical Applications*.
- Mansour, A. M., & Haddad, R. (2016). Optical coherence tomography of band keratopathy. *BMJ Case Reports*, 2016.
- Meller, D., Pauklin, M., Thomasen, H., Westekemper, H., & Steuhl, K.-P. (2011). Amniotic membrane transplantation in the human eye. *Deutsches Arzteblatt International*, 108(14), 243–248.
- Moreno García, C. &, & Lorente Moore, R. (2014). *Trasplante de membrana amniótica*. 1–13.
- Ortega Molina, J., Chaves Samaniego, M., Salgado Miranda, A., & Solans Pérez-Larraya, A. (2014). La membrana amniótica en oftalmología: del recubrimiento - injerto a la ingeniería tisular. Artículo de revisión. *Rev. Esp. Investig. Oftalmol*, January 2015, 117–122.
- Ortiz Pérez, S. (2015). *Manual de enfermería oftalmológica*. 1–91. Disponible en: [https://www.laboratoriossthea.com/medias/manual\\_de\\_enfermeria\\_texto\\_2.pdf](https://www.laboratoriossthea.com/medias/manual_de_enfermeria_texto_2.pdf)
- Paggiaro, A. O., Carvalho, V. F., & Gemperli, R. (2021). Effect of different human tissue processing techniques on SARS-CoV-2 inactivation-review. *Cell and Tissue Banking*, 22(1), 1–10.
- Park, W. C., & Tseng, S. C. G. (2000). Modulation of acute inflammation and keratocyte death by suturing, blood, and amniotic membrane in PRK. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 41(10), 2906–2914.
- Paz, P. (2016). *Colágeno en cultivos celulares Posible tratamiento de enfermedades*.
- Peris Martínez, C. (2004). *Trasplante de membrana amniótica en la reconstrucción de la superficie ocular*. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/5481/1/1020149995.pdf>
- Pidro, A., Biscevic, A., Pjano, M. A., Mravicic, I., Bejdic, N., & Bohac, M. (2019). Excimer Lasers in Refractive Surgery. *Acta Informatica Medica : AIM : Journal of the Society for Medical Informatics of Bosnia & Herzegovina : Casopis Drustva Za Medicinsku Informatiku BiH*, 27(4), 278–283.
- Prabhasawat, P., Kosrirukvongs, P., Booranapong, W., & Vajaradul, Y. (2000). Application of preserved human amniotic membrane for corneal surface reconstruction. *Cell and Tissue Banking*, 1(3), 213–222.

- Puel Marín, M. C. (2009). *Introducción a la cirugía refractiva*. 2, 117–129.
- Puell, M. (2006). *Óptica Fisiológica: el sistema óptico del ojo y la visión binocular*.
- René Moreno, N., Miguel Srur, A., & Carlos Nieme, B. (2010). Cirugía refractiva: indicaciones, técnicas y resultados. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 21(6), 901–910.
- Riedel, R. N., Pérez-Pérez, A., Sánchez-Margalet, V., Varone, C. L., & Maymó, J. L. (2021). Stem cells and COVID-19: are the human amniotic cells a new hope for therapies against the SARS-CoV-2 virus? *Stem Cell Research and Therapy*, 12(1), 1–19.
- Somani, S. N., Moshirfar, M., & Patel, B. C. (2021). *Photorefractive Keratectomy*.
- Sorsby, A., & Symons, H. M. (1946). AMNIOTIC MEMBRANE GRAFTS IN CAUSTIC BURNS OF THE EYE: (Burns of the second degree). *The British Journal of Ophthalmology*, 30(6), 337–345.
- Spadea, L., & Giovannetti, F. (2019). Main Complications of Photorefractive Keratectomy and their Management. *Clinical Ophthalmology (Auckland, N.Z.)*, 13, 2305–2315.
- Tissuetech. (05 de 04 de 2021). *Biotissue*. Obtenido de Biotissue: <https://www.biotissue.com/prokera/>
- Tissuetech. (05 de 04 de 2021). *Biotissue*. Obtenido de Biotissue: <https://www.biotissue.com/amniograft/>
- Trujillo-de Santiago, G., Sharifi, R., Yue, K., Shrizaei Sani, E., Saheb Kashaf, S., Álvarez Moisés, et al. (2018). *Ocular Adhesives: Design, Chemistry, Crosslinking Mechanisms, and Applications* Grissel Trujillo-de Santiago. 1–75.
- Vaidyanathan, U., Hopping, G. C., Liu, H. Y., Somani, A. N., Ronquillo, Y. C., Hoopes, P. C., et al. (2019). Persistent Corneal Epithelial Defects: A Review Article. *Medical Hypothesis, Discovery & Innovation Ophthalmology Journal*, 8(3), 163–176.
- Vlasov, A., Sia, R. K., Ryan, D. S., Mines, M. J., Stutzman, R. D., Rivers, B. A., et al. (2016). Sutureless cryopreserved amniotic membrane graft and wound healing after photorefractive keratectomy. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*, 42(3), 435–443.
- Xiao, Q., Chen, Y., Du, J., Wang, H., Li, W., & Liu, Z. (2014). Effects of amniotic extraction on epithelial wound healing and stromal remodelling after excimer laser keratectomy in rabbit cornea. *Chinese Journal of Ophthalmology*, 50(1), 42–50.
- Yeung, T. L. M., Liu, S., Li, B. C. Y., Mok, K. M., & Li, K. K. W. (2021). Amniotic membrane harvesting during COVID-19 pandemic. In *Eye (London, England)* (Vol. 35, Issue 3, p.

1019).

Zahid, H. M., Rahman, M. S., Diba, F., Hossain, M. L., Akhtar, N., Siddika, A., et al. (2020). Human bone and amniotic membrane banking in Bangladesh for grafting: the impact of the international atomic energy agency (IAEA) programme. *Cell and Tissue Banking*, 21(3), 523–533.