



# Revista Mexicana de Oftalmología

www.elsevier.es



## ► Artículo original

# Aplicación de plasma rico en plaquetas combinado con injerto de membrana amniótica en el tratamiento de adelgazamientos corneales

*Application of platelet rich plasma with amniotic membrane grafting for the treatment of corneal thinning*

William Robert Muñoz-Cruz,<sup>1</sup> Israel Luna-Martínez,<sup>2</sup> Leticia Vázquez-Maya,<sup>3</sup> Karla García-Carmona,<sup>1</sup> Mariana Martínez-Pardo<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Oftalmología, Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga", México D.F., México

<sup>2</sup> Servicio de Oftalmología, Hospital General "Dr. Manuel Gea González", México D.F., México

<sup>3</sup> Jefatura del Departamento de Córnea y Cirugía Refractiva, Servicio de Oftalmología, Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga", México D.F., México

<sup>4</sup> Banco de Tejidos Radioesterilizados, Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, México D.F., México

## Palabras clave:

Plasma rico en plaquetas, membrana amniótica, adelgazamiento corneal, México.

## ► Resumen

**Objetivo:** Evaluar la eficacia de aplicación de plasma rico en plaquetas (PRP) combinado con injerto de membrana amniótica radioesterilizada (MARCO<sup>60</sup>), en el tratamiento de adelgazamientos corneales que no responden al tratamiento convencional.

**Métodos:** Un total de 11 ojos de 11 pacientes (seis hombres y cinco mujeres) con adelgazamientos corneales que no mejoraron luego de 15 días de tratamiento convencional fueron incluidos en este estudio. Se aplicó en quirófano PRP y MARCO<sup>60</sup> sobre el adelgazamiento corneal. La mejoría se definió como la reducción de al menos 50% en la superficie total del adelgazamiento, durante un periodo de seguimiento de 12 semanas.

## ► Abstract

**Objective:** To evaluate the effectiveness of application of platelet rich plasma (PRP) combined with radioesterilized amniotic membrane transplantation (MARCO<sup>60</sup>) in the treatment of corneal thinning that does not respond to conventional treatment.

**Methods:** A total of 11 eyes of 11 patients (six men and five women) with corneal thinning that did not improve after of 15 days of conventional treatment were included in this study. Activated PRP and MARCO<sup>60</sup> were applied at the site of corneal thinning in the operating room. Improvement was defined as a reduction of at least 50% of the total area of thinning during a follow up period of 12 weeks.

## Keywords:

Platelet rich plasma, radioesterilized amniotic membrane, corneal thinning, Mexico.

**Resultados:** Hubo mejoría en la superficie total del adelgazamiento corneal en el 100% de los pacientes a las 12 semanas. Seis pacientes (55%) presentaron cierre total de la herida. La mitad de los pacientes logran una mejoría con reducción de 50% o más de la superficie total del adelgazamiento, luego de un periodo de dos semanas de tratamiento (error estándar 0.213), y el cierre total a las 12 semanas. Todos los signos clínicos mejoraron en forma estadísticamente significativa, excepto la secreción. No hubo relación estadísticamente significativa entre la edad del paciente y el porcentaje de mejoría de la lesión ( $-0.100$ ;  $p=0.771$ ), así como tampoco entre la profundidad de la lesión y el porcentaje de mejoría ( $0.157$ ;  $p=0.645$ ).

**Conclusión:** La combinación de uso de PRP y MARCO<sup>60</sup> resulta una opción de tratamiento eficaz y seguro, para el manejo de los adelgazamientos corneales de diversas etiologías refractarias al tratamiento convencional.

**Results:** There was an improvement in the total area of corneal thinning in 100% of patients at 12 weeks. Six patients (55%) had total wound closure. Half of patients achieved an improvement with reduction of 50% or more of the total area of thinning after a period of two weeks of treatment (standard error 0.213), and complete closure at 12 weeks. All clinical signs, with the exception of secretion, showed a statistically significant improvement. There was no statistically significant relationship between patient age and the percentage of improvement of the thinning ( $-0.100$ ;  $p=0.771$ ), nor between the depth of the thinning and the percentage of improvement ( $0.157$ ;  $p=0.645$ ).

**Conclusion:** The combined use of PRP and MARCO<sup>60</sup> is a safe and effective treatment option for management of corneal thinning of various etiologies refractory to conventional therapy.

## ► Introducción

Los adelgazamientos corneales en su mayoría responden a tratamientos convencionales, sin embargo hay casos que no responden a dichos tratamientos y en ellos se ven involucrados una serie de factores como la pérdida de sensibilidad corneal, defectos epiteliales persistentes o retardo en la cicatrización de herida epitelial,<sup>1</sup> en úlceras inmunológicas,<sup>2</sup> quemaduras corneales que comprometen en forma importante las terminaciones nerviosas libres, además de las células madre del limbo y el estroma anterior.<sup>3</sup>

El plasma rico en plaquetas (PRP) tiene factores de crecimiento y curación de heridas, tales como factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento transformante beta, factor de crecimiento endotelial, factor de crecimiento de fibroblastos, factor de crecimiento tipo insulina y factor de crecimiento endotelial vascular, entre otros.<sup>4</sup> Se ha utilizado eficazmente para ayudar en la reparación de la herida y la curación en diversos campos de la medicina,<sup>5-7</sup> incluyendo el tratamiento de los adelgazamientos corneales.<sup>8</sup>

El tratamiento con PRP autólogo se ha reportado beneficioso en varios desórdenes de la superficie

ocular, como úlceras corneales latentes, síndrome de superficie ocular post-LASIK y ojo seco sintomático.<sup>9,10</sup> También ha demostrado ser eficaz en quemaduras oculares químicas, con apreciable reducción del tiempo de epitelización corneal y conjuntival, y tiempo de curación.<sup>11,12</sup> La obtención exclusiva de plaquetas, excluye interleucinas inflamatorias de origen leucocitario.<sup>13</sup> El uso de PRP no conlleva riesgo de reacción inmune o transmisión de enfermedades, ya que se obtiene de la sangre del paciente,<sup>8</sup> así como el riesgo de contaminación es mínimo, si se obtiene en condiciones adecuadas.<sup>14</sup>

El uso de la membrana amniótica en la cirugía oftalmológica ha mostrado proveer una alternativa en la reconstrucción corneal y conjuntival en muchas situaciones clínicamente difíciles.<sup>15,16</sup> Desde 1946 y 1947, Sorsby y colaboradores reportaron resultados exitosos en el tratamiento de quemaduras químicas con amnios humano, utilizando un proceso llamado "amnioplastia".<sup>17</sup> En 1997, Pellegrini publicó el primer uso de restauración epitelial.<sup>18</sup> Rodríguez-Ares<sup>19</sup> y colaboradores reportaron el uso de injerto de membrana amniótica en tratamiento de perforaciones corneales de diferentes tamaños.<sup>20</sup> Vázquez-Maya y colaboradores encontraron que la membrana amniótica radioesterilizada

con Cobalto-60 (MARCO<sup>60</sup>), resulta en un tratamiento efectivo y seguro para enfermedades de la superficie ocular.<sup>21</sup>

## Métodos

El presente es un estudio clínico, prospectivo, intervencionista y longitudinal. Un total de 11 ojos de 11 pacientes (seis hombres y cinco mujeres) con adelgazamientos corneales que no mejoraron luego de 15 días de tratamiento convencional, fueron incluidos en este estudio. La mejoría se definió como la reducción del 50% o más en la superficie total del adelgazamiento, durante un seguimiento de 12 semanas, confirmado mediante exploración en lámpara de hendidura con un micrómetro sensitivo de 0.02 mm. El estudio siguió los principios de la Declaración de Helsinki, 2000. Se obtuvo consentimiento informado de todos y cada uno de los pacientes.

Los pacientes fueron tratados quirúrgicamente con un coágulo de PRP activado más injerto de MARCO<sup>60</sup>. El tratamiento médico sistémico de base se mantuvo.

La edad promedio de los pacientes fue 51.2 años (rango 27 a 70 años). Los pacientes tuvieron una exploración oftalmológica completa incluyendo agudeza visual mejor corregida con cartilla de Snellen, biomicroscopía, y tinción corneal con fluoresceína antes y después del tratamiento con PRP y MARCO<sup>60</sup>. Durante la exploración, se consideró la superficie total del adelgazamiento (medido en mm<sup>2</sup>), así como apariencia de la conjuntiva (quemosis, inflamación, hiperemia conjuntival o ciliar, secreción, lagrimeo y dolor -definido como presente o ausente-).

### Preparación del PRP

A cada paciente se le extrajo 8.1 cc de sangre periférica venosa, se colocó en tubos de 2.7 mL con citrato sódico al 3.2%; posteriormente se centrifugó a 1 500 rpm durante seis minutos, para obtener un concentrado de plaquetas en el plasma. Bajo campana de flujo laminar se realizó la separación del plasma mediante pipeteo en fracción pobre, mediana y rica en plaquetas, ésta última es la porción más cercana a la serie roja.

### Procedimiento de aplicación de PRP y MARCO<sup>60</sup>

Los pacientes fueron tratados quirúrgicamente con un coágulo de PRP activado, combinado con injerto

de MARCO<sup>60</sup>. La activación del PRP se realizó mediante aplicación de cloruro de calcio al 10%, 50 µL por cada mL de PRP y se dejaba a temperatura ambiente por aproximadamente cinco a ocho minutos, hasta que se formara un coágulo de PRP activado.

En sala de quirófano, bajo anestesia local, previa asepsia y antisepsia, se realizó una peritomía límbica de 360°, luego se colocó el injerto de MARCO<sup>60</sup> plegado en dos capas sobre el defecto corneal, fijándolo con surgete continuo de monofilamento de Nylon 10.0, deslizando los bordes por debajo de la conjuntiva; el coágulo activado de PRP se introdujo por debajo del injerto de MARCO<sup>60</sup> antes de terminar de suturar, donde se formó un espacio a manera de “bolsillo” y luego se completó el cierre total de la herida (**Figura 1**). La sutura fue retirada a los 14 días posoperatorios.

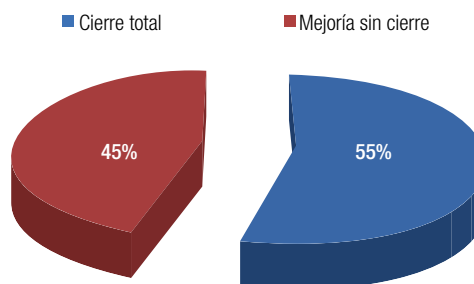
### Seguimiento de los pacientes

Las revisiones postratamiento fueron a las semanas uno, cuatro y 12, obteniéndose registro fotográfico en cada revisión. Se cuestionó la presencia de dolor. La evaluación biomicroscópica incluyó una descripción del nivel de hiperemia conjuntival o ciliar, presencia de secreción o edema conjuntival. La mejoría o el fallo fueron definidos en base al criterio antes mencionado.

### Análisis estadístico

Se utilizó prueba de sobrevivencia de Kaplan-Meier para determinar el tiempo en el que la mitad de los pacientes alcanzan la mejoría, así como el cierre completo de la lesión en semanas. Se utilizó además prueba de Wilcoxon para comparación de variables pre y postratamiento, así como para

**Figura 1.** Porcentaje de éxito del tratamiento.



valorar su significancia estadística. Por último, se realizó coeficiente de correlación de Pearson para determinar si la profundidad de la lesión o la edad del paciente, se relacionaban con el resultado del tratamiento.

## ► Resultados

Las características de los adelgazamientos corneales de los pacientes se resumen en la **Tabla 1**.

Se observó mejoría en la superficie total del adelgazamiento corneal en el 100% de los pacientes tras 12 semanas de seguimiento, observándose cierre total del adelgazamiento en seis pacientes (55%) (**Figura 1**).

Diez pacientes (91%) presentaban quemosis antes del tratamiento y tres (27%) después del tratamiento. El 100% de los pacientes presentaban hiperemia conjuntival y ciliar antes del tratamiento y cinco pacientes (45%) después del mismo. Seis pacientes (54%) presentaban secreción antes del tratamiento y tres (27%) al término del estudio. En cuanto al lagrimeo, nueve pacientes (81%) lo presentaron al inicio del estudio y sólo dos (18%) al final del mismo. En lo referente al dolor o sensación de cuerpo extraño, 10 pacientes (91%) se quejaban del mismo al inicio del estudio y tres (27%) luego del tratamiento. El 100% de los pacientes presentaba tinción positiva con fluoresceína

antes de iniciar tratamiento y cuatro (36%) al concluir el estudio.

Con la prueba de Wilcoxon, se observó mejorías estadísticamente significativas en todos los parámetros en los que fue aplicada luego de 12 semanas de seguimiento, a excepción de la presencia de secreción (**Tablas 2 y 3**).

En cuanto a la prueba de Kaplan-Meier, el resultado muestra que la mitad de los pacientes logra una mejoría con reducción de 50% o más de la superficie total del adelgazamiento, luego de un periodo de dos semanas de tratamiento (error estándar 0.213). Se realizó una nueva prueba de Kaplan-Meier para evaluar el tiempo en el que los pacientes logran el cierre total de la lesión, dando un tiempo medio de 12 semanas (error estándar 5.12) (**Tablas 4 y 5**).

Finalmente, en la prueba de coeficiente de correlación de Pearson no se encontró relación estadísticamente significativa entre la edad del paciente y el porcentaje de mejoría de la lesión ( $-0.100$ ;  $p=0.771$ ), así como tampoco entre la profundidad de la lesión y el porcentaje de mejoría ( $0.157$ ;  $p=0.645$ ) (**Tabla 6**).

## ► Discusión

Diversos estudios<sup>9,10</sup> al igual que el nuestro, demuestran que el tratamiento con PRP fomenta el

► **Tabla 1.** Características de las úlceras de los pacientes.

Paciente	Edad	Sexo	Diagnóstico	Profundidad de la lesión	AV inicial	AV final	Superficie inicial de la úlcera (mm <sup>2</sup> )	Superficie final de la úlcera (mm <sup>2</sup> )
1	27	F	Quemadura álcali	Subepitelial	CD 50 cm	20/30	80.5	5.04
2	60	F	Úlcera neurotrófica	Descematocele	NPL	NPL	10.08	0.5
3	60	M	Úlcera neurotrófica	Estroma prof	NPL	NPL	4	0.25
4	56	M	Úlcera neurotrófica	Estroma ant	PL	PL	31.9	6.12
5	34	M	Úlcera neurotrófica	Subepitelial	MM	MM	13.75	1.0
6	68	M	Úlcera neurotrófica	Estroma prof	PL	MM	3	Cicatrizada
7	32	F	Úlcera neurotrófica	Estroma ant	CD 50 cm	CD 50 cm	12	Cicatrizada
8	70	M	Artritis reumatoide	Estroma prof	PL	MM	16	Cicatrizada
9	49	M	Úlcera micótica	Estroma prof	MM	CD 50 cm	15.2	Cicatrizada
10	51	F	Úlcera neurotrófica	Subepitelial	PL	MM	4	Cicatrizada
11	56	F	Úlcera neurotrófica	Estroma ant	PL	PL	9	Cicatrizada

F: femenina; M: masculino; AV: agudeza visual; CD: cuenta dedos; NPL: no percibe luz; PL: percepción de luz; MM: movimiento de manos.

► **Tabla 2.** Prueba de Wilcoxon para las características clínicas antes y después del tratamiento.

Variable	Quemosis	Inflamación	Hiperemia	Secreción	Lagrimeo	Dolor	Tinción
Z	-2.449	-2.646	-2.449	-1.732	-2.449	-2.646	-2.646
p	0.014	0.008	0.014	0.083	0.014	0.008	0.008

► **Tabla 3.** Prueba de Wilcoxon para las características de las úlceras antes y después del tratamiento.

Variable	Superficie úlcera	Diámetro horizontal	Diámetro vertical
Z	-2.934	-2.936	-2.947
p	0.003	0.003	0.003

cierre epitelial evidenciado por la disminución o desaparición de la tinción con fluoresceína, así como mejoría de las condiciones de la superficie ocular como la inflamación, hiperemia, lagrimeo, dolor o sensación de cuerpo extraño,<sup>2</sup> no siendo así con la secreción, pues ésta puede estar presente debido a la patología de fondo y no siempre asociada a mejoría ni a un proceso infeccioso.

Vázquez-Maya y colaboradores reportaron un efecto deseado con MARCO<sup>60</sup> en un 90% en defectos epiteliales y adelgazamiento estromales, respecto a la restauración del epitelio, transparencia corneal o no presencia de leucoma.<sup>21</sup>

Por su parte, Márquez de Aracena y colaboradores demostraron la eficacia del tratamiento con PRP en patologías más severas y de peor pronóstico, como son las quemaduras corneales químicas, mostrando mejoría en sus pacientes y mejor pronóstico comparado al tratamiento convencional.<sup>12</sup> En nuestro estudio, el cual involucra a un mayor número de pacientes, demostramos resultados positivos en adelgazamientos corneales tanto neurotróficos como de otras etiologías que eran incluso de un tamaño considerablemente mayor a la reportada por Orduño-Prados y Alió,<sup>8</sup> con diámetros de hasta 10 mm, así como diversos grados de profundidad. El 100% de los pacientes mostraron una mejoría significativa en el tamaño del adelgazamiento en cuestión, y en 55% se observó completa reepitelización y relleno estromal del lecho del adelgazamiento, al igual que en el caso reportado por Orduño-Prados<sup>8</sup> y Alió y colaboradores, con 71% de curación completa.<sup>2</sup> El tiempo de cicatrización fue variable entre los pacientes, con

► **Tabla 4.** Resultado de la prueba de Kaplan-Meier para supervivencia, definida como reducción  $\geq 50\%$  de la superficie de la úlcera corneal.

Tiempo de supervivencia (semanas)	Proporción de supervivencia
1	
1	
1	0.727
2	
2	
2	
2	
2	
2	0.182
12	
12	0.000

Tamaño de la muestra: 11; tiempo medio de supervivencia: 2 semanas.

una reducción del 50% o más en la superficie total del adelgazamiento en un periodo aproximado de dos semanas de tratamiento, e incluso podemos esperar la epitelización completa entre las cuatro y las 12 semanas de tratamiento en la mayoría de los pacientes, mientras que el tiempo promedio de epitelización encontrado por Rodríguez-Ares M. y colaboradores fue de 3.7 semanas (rango de 2-6) y el tiempo de recuperación de grosor estromal corneal fue 10.1 semanas (rango de 7-15);<sup>19</sup> todos los pacientes mostraron una mejoría notable en adelgazamientos corneales de etiologías diversas, con grados de profundidad variables y en diferentes rangos de edad como lo realizado por Alió y colaboradores, quienes encontraron hasta un 71% de curación total.<sup>2</sup> El tratamiento con PRP y MARCO<sup>60</sup> resulta eficaz, sin importar la profundidad de la lesión, pues aún con perforación inminente se logró una mejoría de casi el 100%, en incluso en tres de los cuatro pacientes (75%), que presentaban defectos hasta estroma profundo. Tampoco



► **Tabla 5.** Resultado de la prueba de Kaplan-Meier para supervivencia, definida como cierre total de la úlcera corneal.

Tiempo de supervivencia (semanas)	Proporción de supervivencia
2	
2	
2	0.727
4	
4	0.545
4	
4	
12	0.409
12	
12	
12	

Tamaño de la muestra: 11; tiempo medio de supervivencia: 12 semanas.

la edad del paciente parece influir en el resultado final, pues se logró el cierre total en los pacientes de mayor edad que participaron en el protocolo. La combinación de uso de PRP y MARCO<sup>60</sup> es una opción de tratamiento eficaz y segura para el manejo de los adelgazamientos corneales de diversas etiologías refractarias al tratamiento convencional, promoviendo la mejoría clínica de la sintomatología y reducción significativa en el tamaño del adelgazamiento, luego del tratamiento que puede ser tan corto como una semana, independientemente de la edad del paciente o la profundidad del adelgazamiento.

## ► Conclusión

La combinación de uso de membrana amniótica y plasma rico en plaquetas, resulta una opción de tratamiento eficaz y segura para el manejo de úlceras corneales de diversas etiologías refractarias al tratamiento convencional, promoviendo la mejoría clínica de la sintomatología y reducción significativa en el tamaño de la úlcera, luego de un periodo de tratamiento que puede ser incluso tan corto como una semana, sin importar la edad del paciente o la profundidad de la lesión.

Por otro lado, se necesitan estudios con mayor número de pacientes y mayor tiempo de seguimiento para establecer si esta opción terapéutica, promueve el cierre total de la úlcera en todos los casos.

► **Tabla 6.** Coeficiente de correlación de Pearson.

Variables relacionadas	Coeficiente	p
Edad del paciente y porcentaje de mejoría	-0.100	0.771
Profundidad de la lesión y porcentaje de mejoría	0.157	0.645

## ► Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## ► Financiamiento

Los autores no recibieron patrocinio para llevar a cabo este artículo.

## Referencias

1. Krachmer J, Mannis M, Holland E. Cornea. 3th Edition. London: Elsevier; 2011.
2. Alio JL, Abad M, Artola A, et al. Use of Autologous Platelet-Rich Plasma in the Treatment of Dormant Corneal Ulcers. *Ophthalmology* 2007;114:1286-1293.
3. Zieske JD, Takahashi H, Hutcheon AE, et al. Activation of epidermal growth factor receptor during corneal epithelial migration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1346-1355.
4. Tanidir ST, Yuksel N, Altintas O, et al. The effect of Subconjunctival Platelet-Rich Plasma on Corneal Epithelial Wound Healing. *Cornea* 2010;29(6):664-669.
5. Choi BH, Im CJ, Huh JY, et al. Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in autogenous bone graft. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2004;33:56-59.
6. Sammartino G, Tia M, Marenzi G, et al. Use of autologous platelet-rich plasma (PRP) in periodontal defect treatment after extraction of impacted mandibular third molars. *J Oral Maxillofac Surg* 2005;63:766-770.
7. Eppley BL, Woodell JE, Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plast Reconstr Surg* 2004;114:1502-1508.
8. Orduño-Prados VJ, Alio JL. Tratamiento de Úlcera Corneal Neurotrófica con Plasma Rico en Plaquetas y Tutopach. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2011;86(4):121-123.
9. Alio JL, Pastor S, Ruiz-Colecha J, et al. Treatment of ocular surface syndrome after LASIK with autologous platelet-rich plasma. *J Refract Surg* 2007;23:617-619.
10. Alio JL, Colecha JR, Pastor S, et al. Symptomatic dry eye treatment with autologous platelet-rich plasma. *Ophthalmic Res* 2007;39:124-129.
11. Imanishi J, Kamiyama K, Iguchi I, et al. Growth factors: importance in wound healing and maintenance of transparency of the corneas. *Prog Retin Eye Res* 2000;19:113-129.
12. Márquez-de-Aracena R, Montero-de-Espinosa I, Muñoz M, et al. Subconjunctival application of regeneration factor-rich plasma for the treatment of ocular burns. *Arch Soc Eur J Ophthalmol* 2009;7:909-915.
13. Márquez-De-Aracena R, Montero-De-Espinosa I, Muñoz M, et al. Aplicación Subconjuntival de Concentrado de Plaquetas Plasmáticas en el Tratamiento de Quemaduras Oculares. Resultados Preliminares. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2007;82:475-482.
14. Alio JL, Colecha JR, Pastor S, et al. Symptomatic Dry Eye Treatment with Autologous Platelet-Rich Plasma. *Ophthalmic Res* 2007;39:124-129.
15. Gomes JA, Romano A, Santos MS, et al. Amniotic Membrane use in Ophthalmology. *Curr Opin Ophthalmol* 2005;16(4):233-240.
16. Meller D, Pauklin M, Thomsen H, et al. Amniotic Membrane Transplantation in the Human Eye. *Dtsch Arztebl Int* 2011;108(14):243-248.
17. Lavker RM, Tseng SC, Sun TT. Corneal epithelial stem cells at the limbus: looking at some old problems from a new angle. *Exp Eye Res* 2004;78(3):433-446.
18. Pellegrini G, Traverso CE, Franzi AT, et al. Long-term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium. *Lancet* 1997;349(9057):990-993.





19. Rodríguez-Ares MT, Touriño R, López-Valladares MJ, et al. Multilayer amniotic membrane transplantation in the treatment of corneal perforations. *Cornea* 2004;23:577-583.
20. Hick S, Demers PE, Brunette I, et al. Amniotic membrane transplantation and fibrin glue in the management of corneal ulcers and perforations: a review of 33 cases. *Cornea* 2005;24:369-377.
21. Vazquez-Maya L, Salazar-Escamilla M. Use of amniotic membrane radios-terilized with cobalt-60 for reconstruction of ocular surface *Revista Médica del Hospital General de México* 2009;72(1):7-15.

