

11210

Aa

2ej

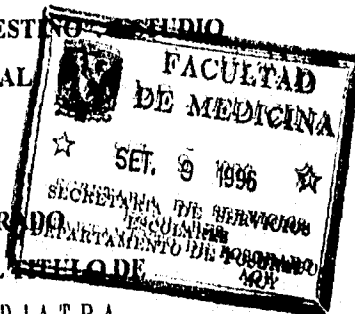
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES

"EFECTOS DEL ACIDO HIALURONICO SOBRE EL MECANISMO
DE CICATRIZACION DEL INTESTINO ESTUDIO

EXPERIMENTAL

TESIS DE POSTGRADO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
CIRUJANO PEDIATRA



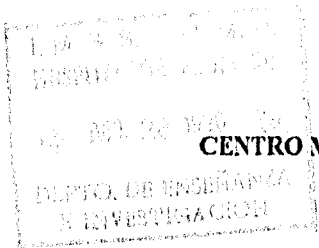
[Handwritten signature]

PRESENTA

HERMILO DE LA CRUZ YANEZ

HOSPITAL DE PEDIATRIA

CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI IMSS



DIRECTOR DE TESIS: DR. MARIO FRANCO GUTIERREZ



MEXICO, D.F. FEBRERO DE 1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

**MI agradecimiento sincero por las facilidades
otorgadas durante mi desempeño profesional
y en particular durante el desarrollo del presente
estudio experimental**

**Gracias a mis compañeros:
por su ayuda
por su disciplina
por su enseñanza
por su comprensión
pero sobre todo su lealtad**

**Gracias a mis maestros
por su amistad, empeño e interés
en una palabra, por ser MAESTROS**

**Gracias al Dr. Mario Franco G.
luz de creatividad y enseñanza
guía instrumental siempre en mi
mente. Amigo siempre**

INDICE

AGRADECIMIENTOS.....	1
I.- INTRODUCCION.....	2
II.- OBJETIVO.....	10
III.- TIPO DE ESTUDIO.....	10
IV.- MATERIAL Y METODO.....	11
TECNICA QUIRURGICA.....	12
V.- RESULTADOS.....	14
EVALUACION MACROSCOPICA.....	15
EVALUACION MICROSCOPICA.....	15
TABLA No 1	17
TABLA No 2	18
TABLA No 3	19
TABLA No 4	19
TABLA No 5	20
TABLA No 6	21
GRAFICAS DE RESULTADOS.....	22
FOTOS (MACROS Y MICROS).....	23
VI.- CONCLUSIONES.....	32
BIBLIOGRAFIA.....	33

**Gracias a Carmen:
por su abnegada compañía
por compartir mis responsabilidades
por su triple sacrificio: Madre, Esposa y compañera
pero sobre todas las cosas por su gran AMOR**

**Gracias a mis hijas
DIANA Y ANDY
mi orgullo y esperanza**

**Gracias a mis padres, a mis hermanas
y a mis suegros por su calido apoyo
siempre cerca de mí**

**Gracias a los niños
a los que están y a los que me ven**

**Gracias a Dios por concederme
la lucidez, la serenidad, el razonamiento
el consuelo y la resignación que como
hombre necesito.**

**EFEECTO DEL ACIDO HIALURONICO SOBRE EL MECANISMO DE
CICATRIZACION DEL INTESTINO .
ESTUDIO EXPERIMENTAL EN RATAS**

I. INTRODUCCION

Durante los pasados 50 años, los avances de la ciencia como de la tecnología, han permitido la reparación de anomalías congénitas, logrando restablecer a pacientes previamente intratables

No obstante, la curación de las heridas con formación de cicatriz patológica o la prevención para su desarrollo siguen siendo un reto.

Los nuevos materiales de sutura así como el perfeccionamiento de las técnicas quirúrgicas en algunos casos no han reducido los problemas secundarios a la cicatrización defectuosa (1).

Desde hace dos décadas se han hecho estudios sobre el mecanismo de curación de las heridas no solo a nivel celular sino también a nivel bioquímico y molecular. Muchas de estas investigaciones han sido conducidas por cirujanos en colaboración con otros científicos de áreas biológicas, tratando de desarrollar una cicatriz lo más parecida al tejido normal mediante manipulación bioquímica o terapéutica (1).

En 1962 es descubierto el primer factor de crecimiento tisular que después de una década es desarrollado en modelos experimentales recibiendo el nombre de : Factor de crecimiento epidérmico (2).

Posteriormente fueron encontrados y reproducidos otros factores de crecimiento como: Factor de crecimiento derivado de las plaquetas; Factor de crecimiento fibroblástico y el Factor de crecimiento de formación - Beta.

Una vez reconocido que la angiogénesis, la proliferación de fibroblastos y la producción de colágena pueden estar estimulados por estos polipéptidos, fueron aplicados de manera experimental para acelerar la curación de heridas (3).

Adizick y Longaker proponen un nuevo enfoque farmacológico ante la posibilidad de modificar terapéuticamente las características de reparación de una herida por ejemplo: en la formación de cicatriz. Tal terapia puede prevenir o revertir muchos tipos de formación de tejido fibrótico, incluyendo: cirrosis hepática, fibrosis pulmonar, retracción por quemaduras etc. basando esta proposición en estudios sobre curación de las heridas en el feto (4).

Evidencias clínicas y experimentales recientes, sugieren que el feto responde a la lesión de manera diferente al adulto y es debido esencialmente a la diferencia que existe en los niveles de ácido hialurónico.

Cuando ocurre la reparación de heridas en el feto, se mantienen concentraciones elevadas de ácido hialurónico en el sitio de la lesión, organiza la disposición de colágena y favorece la diferenciación celular temprana, de tal modo que se origine una cicatriz pequeña, sin fibrosis ni retracción. En el adulto, existe formación de ácido hialurónico con una elevación transitoria y de menor duración condicionando

reparación del tejido por: Reepitelización, inflamación aguda y crónica angiógenesis, contracción y remodelación. En ausencia de ácido hialurónico como un modulador de regeneración, predomina la formación de una cicatriz anormal; gruesa, fibrosa, débil, retráctil, estenosante etc.

Este fenómeno fue primeramente observado en la experiencia en Cirugía fetal por parte del programa de " TRATAMIENTO FETAL DE LA UNIVERSIDAD DE SAN FRANCISCO CALIFORNIA DESDE 1981 " (5, 6, 7).

Hasta el momento, los mecanismos identificados como de mayor influencia sobre la reparación de lesiones en el feto son tres:

- 1.- Tensión de oxigenación baja (PO₂ Arterial de 20 mm. Hg.)
- 2.- Ausencia de inflamación aguda (los leucocitos polinorfonucleares e inmunoglobulinas, no están presentes en la matriz extracelular de la lesión)
- 3.- Ambiente propicio de líquido amniótico (temperatura adecuada, esterilidad y contenido rico en factores de crecimiento).

Se atribuye también a la cicatrización, la presencia de una membrana extracelular única con componentes estructurales macromoleculares diferentes a los que existen en la matriz extracelular del adulto. En resumen, la aparición temprana y permanente de ácido hialurónico que facilita la movilidad y proliferación celular. (8).

De Palma - Krummel y colaboradores (9) demostraron que la matriz extracelular contiene grandes concentraciones de ácido hialurónico. Un glucosaminoglicano encontrado cuando ocurre movimientos y proliferación rápida de las células. El suero fetal, el líquido amniótico, el

líquido de las heridas y un gran número de los tejidos del feto contienen una glucoproteína llamada: ACTIVIDAD ESTIMULANTE DE ACIDO HIALURONICO (HASA). Este factor está presente en el feto por un periodo prolongado dando por resultado una respuesta rica en ácido hialurónico (mecanismo ausente en el adulto).

En el adulto, existe depósito temprano de ácido hialurónico y en menor concentración mismo que desaparece por efecto de la enzima hialuronidasa que se libera inmediatamente después de la agregación plaquetaria y disposición de coágulos de fibrina. Se deposita entonces glucosaminoglucanos surfactados que dan origen a la formación de una cicatriz (10, 11,12).

En el feto la HASA no solo estimula la producción de ácido hialurónico y mantiene concentraciones óptimas en el sitio de la lesión, sino también inhibe la acción de la enzima hialuronidasa por tiempo prolongado.

La determinación de ácido hialurónico, se hace mediante el método descrito por Schillings y Hunt hace más de 20 años.

Estudios realizados en corderos hembras gestantes reportaron las concentraciones de ácido hialurónico por ser elemento principal de la matriz extracelular, encontrando que en el adulto: al primer día fue posible obtener 1 - 2 ml. de líquido con niveles de AH de 7.0 ± 1.2 mcg con decremento importante hasta el séptimo día aproximadamente de 0.0 ± 0.9 mcg. Posteriormente el decremento es tal que para el día 21 de producida la lesión no se encuentran niveles de AH (fig. 1).

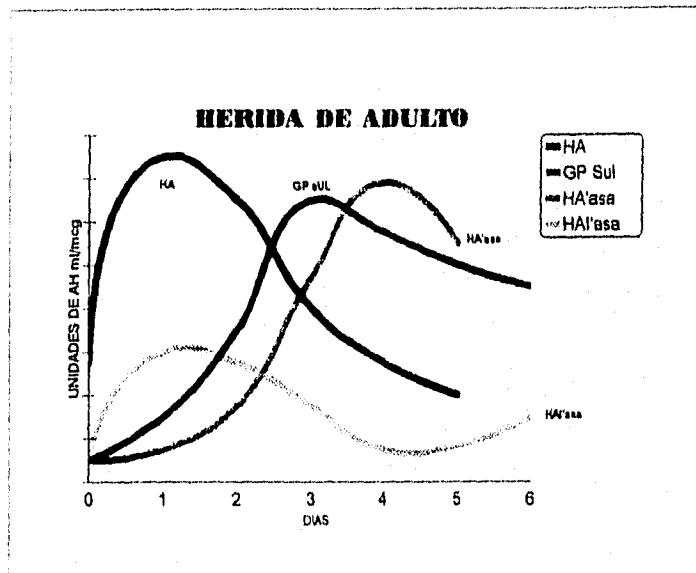
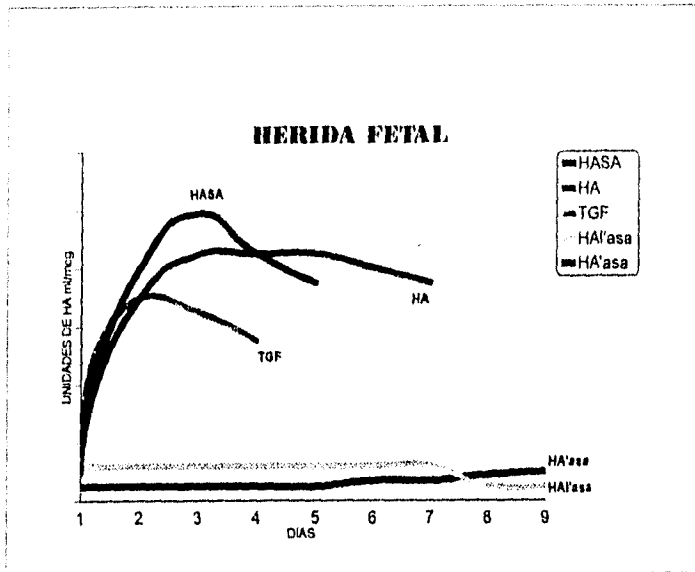
En el feto: del 0 - 2 días, muestra incremento de líquido en la herida hasta de 4 ml, alcanzando niveles de AH al tercer día de 4.6 ± 1.4 mcg. Esta misma concentración se mantiene hasta los 21 días de observación y mostrando una disminución lenta hasta el tercer mes de producida la lesión (5, 13, 14) (fig.2).

(FIGURAS 1-2)

EN LA HERIDA DEL FETO, EL INCREMENTO TEMPRANO DE FACTOR ESTIMULANTE DE PRODUCCION DE ACIDO HIALURONICO, EJERCE ACTIVIDAD TAMBIEN INHIBIENDO LA PRODUCCION DE ENZIMA NEUTRALIZADORA. POR OTRA PARTE FAVORECE LA FORMACION DE OTROS FACTORES DE CRECIMIENTO.

EN EL ADULTO POR EL CONTRARIO, NO EXISTE FACTOR DE LIBERACION DE ACIDO HIALURONICO POR LO QUE PREDOMINA LA ACCION DE LA ENZIMA HIALURONIDASA POR LO QUE LA REGENERACION SE BASA EN LA LIBERACION DE OTROS FACTORES GLUCOPROTEICOS SINTETIZADOS EN MENOR CANTIDAD.

VALORES: HA (ácido hialurónico)
AEAH- (actividad estimulante de ácido hialurónico)
HASA- (enzima hialuronidasa)
HAI'asa (factor inhibidor de hialuronidasa)
TGF (factor de transformación de crecimiento)
GPSul (glicoproteínas surfactadas)



Considerando lo anterior y tomando en cuenta la necesidad de mantener concentraciones tempranas, altas y prolongadas de ácido hialurónico en el sitio de la lesión, existe la posibilidad de modular la reparación de tejidos del niño o del adulto de manera que se forme ésta cicatriz lo más parecida a la del feto.

No existe en la literatura reportes sobre la utilización de ácido hialurónico como recurso terapéutico para manipulación de regeneración de los tejidos. En nuestro medio es posible obtener mediante síntesis directa, extracto de ácido hialurónico ya sea de cordón umbilical humano o bien de tráquea o sinovia de corderos (SYGMA 50 - 100 mg). Para reproducción de un modelo experimental en animales y evaluar su utilidad en la práctica médica.

La presencia de cicatriz fibrosa, estenosante, retráctil, así como las complicaciones consecuencia de adherencias postoperatorias son hasta la fecha fenómenos que frecuentemente truncan el beneficio que se intenta al realizar innumerables procedimientos quirúrgicos.

El cirujano pediatra enfrenta diariamente las consecuencias de una formación excesiva de tejido de cicatrización en lesiones o heridas en piel. En cirugía abdominal el desarrollo de adherencias bridas que posteriormente pueden originar cuadros oclusivos intestinales. Estenosis en sitios de anastomosis (intestinal, vascular, tráquea, uretra uretero, conductos biliares etc.) otros ejemplos son : estenosis de esófago, después de ingestión de cáusticos y estenosis uretral post-traumática, adherencias tendinosas después de cirugía de mano y una lista de innumerable de procedimientos que para su curación dependen fundamentalmente de la cicatrización.

Las principales causas de reintervención en niños están favorecidas por la formación de cicatriz patológica originando en nuestro medio una elevada morbimortalidad.

A pesar de la depuración escrupulosa de las técnicas quirúrgicas y el empleo de materiales óptimos la regeneración ideal de los tejidos sigue siendo un reto.

II OBJETIVO

Evaluar micro y macroscopicamente, el efecto del ácido hialurónico en la cicatrización del intestino, comparando con un grupo control.

III TIPO DE ESTUDIO

Doble ciego

IV MATERIAL Y METODOS

RECURSOS HUMANOS: Cirujano Pediatra Responsable de la investigación y residente TESISISTA

Medico veterinario y técnico auxiliar.

Medico Patólogo .

RECURSOS MATERIALES: Area fisica LABORATORIO EXPERIMENTAL DEL CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI I.M.S.S.

- Sala de Operaciones y mesa quirúrgica. (lupa opcional)
- Ratas adultas cepa Wistar Macho 2-4 meses de vida con peso entre 350-450 gr. (35 ratas).
- Droperidol y Ketalar
- Acido hialurónico desecado (extracto de cordón umbilical humano frasco de 50 y 100 mg sellado y estéril)
- Laboratorio SYGMA preparación : 10 ml = a 3 mg en solución al 0.9 % . -
- Gelatina sintética GELFOAM
- Material de sutura: Seda 7-0 doble armada, atraumática Mersilene 4-0 cortante.
- Jeringas estériles de 1 y 3 ml, material de curación.
- Formol al 10%.

Se observó su evolución, efectos adversos y complicaciones.

MATERIAL Y METODOS:

TECNICA QUIRURGICA

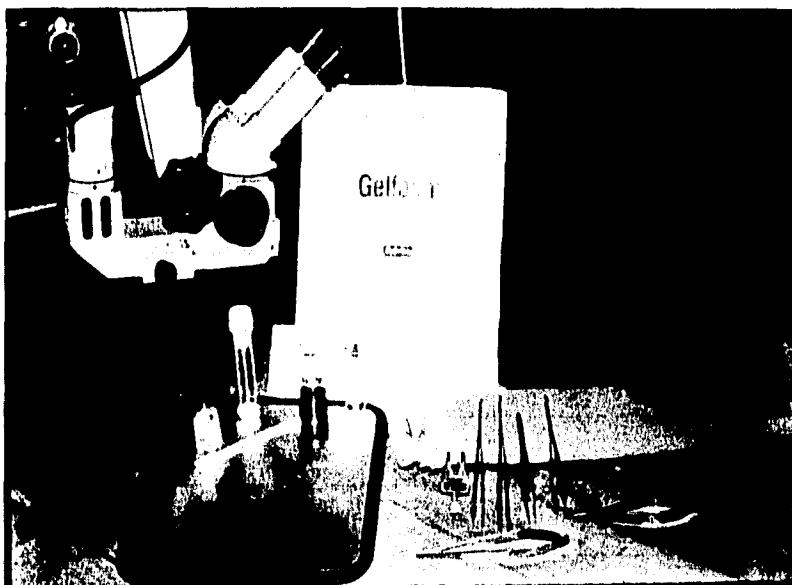
Se utilizaron 30 ratas de la cepa Wistar macho del bioterio de la División de Cirugía Experimental de la unidad de Investigación del Instituto Mexicano del Seguro Social, Centro Medico Nacional Siglo XXI. Fuéron divididos en tres grupos de 10 cada uno. se sometieron a anestesia general intramuscular con dihidrobenzoperidol a dosis de 2mg/Kg, y clorhidrato de Ketamina a dosis de 50 mg/Kg.

Mediante laparotomía media se eviscera y explora ausencia de malformaciones del tracto gastrointestinal. Se avanza por taxis el contenido fecal proximal hasta el ciego y colon.

Se realiza resección de 1cm. de ileon terminal aproximadamente de 5 cm. de la válvula ileocecal. Se verifica hemostasia del mesenterio y se realiza anastomosis abierta termino-terminal en un plano de sutura interrumpida con seda 7-0 iniciando en los bordes mesentérico y antimesentérico (22). Se introduce en la luz del intestino un "rollo de Gelfoam" que ferule el sitio de la anastomosis y se termina aplicando puntos simples aproximadamente a 1mm. de distancia uno de otro. Se corrobora la ausencia de fuga y se cierra la pared con sutura no absorbible 4-0 con surgete continuo los planos aponeurótico, muscular y piel. (GRUPO CONTROL). (fotos A y B).

Se realiza el mismo procedimiento al grupo II pero con la aplicación de ácido hialurónico en la luz del intestino precisamente en el sitio donde se coloca la gelatina sintética pexiada en la plastia. (Se deja 15

MATERIAL Y METODO



RECURSOS MATERIALES

mcg= 0.5ml) 15 mcg más son instilados en la cavidad abdominal antes del cierre.

Al grupo III se le practica el mismo procedimiento con ácido hialurónico en la luz (15 mcg= 0.5 ml) y la misma cantidad pero ahora al peritoneo parietal después de despulir y lastimar con una pinza de disección con dientes.

Se vigiló su evolución postoperatoria iniciando la vía oral a las 24 HRS con líquidos y 48 Hrs. su alimento normal. Se sacrificaron al 8º día de postoperatorio (tiempo equiparable al máximo de regeneración tisular en el humano; 5,13,14) anotando, los hallazgos macroscópicos de: permeabilidad y formación de adherencias.

Se reseco la zona anastomosada para estudio histopatológico de: reacción inflamatoria, fibrosis, regeneración muscular y reacción granulomatosa a cuerpo extraño.

V RESULTADOS

Se estudiaron un total de 30 ratas, agrupadas en tres lotes de 10 cada uno.

- GRUPO I (grupo control NO se aplicó ácido hialurónico AH) n=7
- GRUPO II (se aplica 15 mcg de AH in situ y 15 mcg en cavidad) n=10
- GRUPO III (se aplican 15 mcg de AH in situ y 15 mcg en la pared, lesionada) n=10.

EVALUACION MACROSCOPICA:

a) permeabilidad de la anastomosis

b) formación de adherencias

LAXAS:(ruptura dlgital)

FIRMES (ruptura con instrumental cortante)

EVALUACION MICROSCOPICA:

a) Reacción inflamatoria

b) Fibrosis

c) Regeneración muscular

d) Reacción granulomatosa

La evaluación de los resultados se realizó mediante la prueba estadística χ^2 observandose altamente significativos con una ($p < 0.05$) por lo que el presente estudio tiene la intención de aumentar el tamaño de la muestra así como extender su utilización en otro tipo de defectos en los que participe en gran medida la regeneración tisular, dejando el campo abierto a nuevas investigaciones.



(foto A) ANASTOMOSIS TERMINO TERMINAL



(foto B) CIERRE DE HERIDA QUIRURGICA

TABLA No 1
RESULTADOS MACROSCOPICOS

PERMEABILIDAD	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III
Completa	4	10	10
Parcial	3	0	0
Incompleto	3(*)	0	0

(*) En el grupo control se presentaron tres defunciones: en dos no fué posible determinar la causa, en la otra ocurrió oclusión intestinal y perforación en el sitio de la anastomosis.

Los grupos que recibieron AH no presentaron problemas de obstrucción intestinal.

TABLA No. 2
RESULTADOS MACROSCOPICOS

ADHERENCIAS	GRUPO I	GRUPOS II	GRUPOS III
Laxas	1	9	10
Firmes	6	1	0
Múltiples	6	2	1 (*)
Escasas	1	8	9

Los grupos que recibieron AH no estuvieron exentos de adherencias, sin embargo, éstas fueron escasas y laxas en comparación con el grupo control.

TABLA No. 3

RESULTADOS MICROSCOPICOS

INFLAMACION	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III
Ausente	0	3	4
Leve/moderada	0	7	6
Abundante	7	0	0

TABLA No 4

RESULTADOS MICROSCOPICOS

FIBROSIS	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III
Ausente	4	0	0
Leve/moderada	3	4	1
Abundante	0	6	9

La regeneración tisular a expensas de células mononucleares y polimorfonucleares es intensa en el grupo control. En los grupos que reciben AII es escasa, ocurre mayor depósito de fibroblastos y colágena diferenciada (tipo II). Lo que otorga resistencia a los tejidos.

TABLA No 5
RESULTADOS MICROSCOPICOS

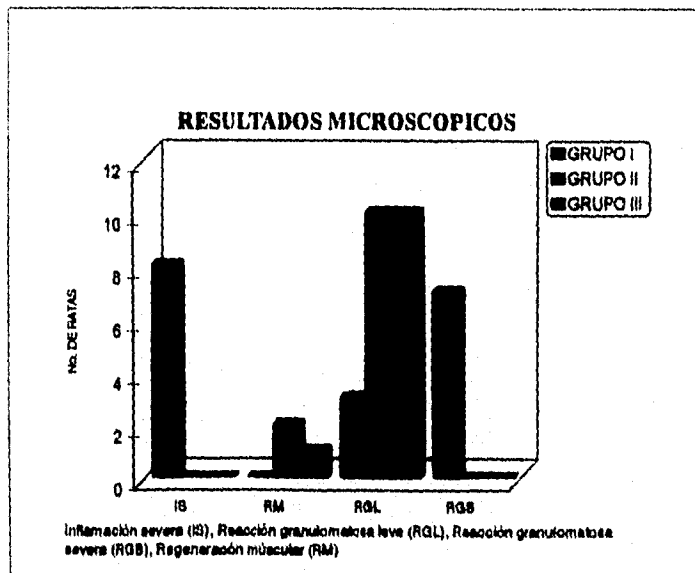
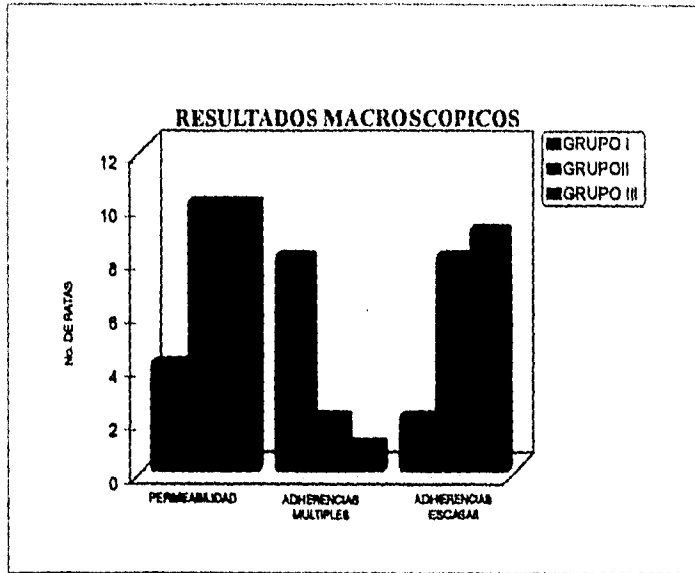
REGENERACION	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III
MUSCULAR	0	2	1

Inicia el proceso de regeneración de músculo liso en el sitio de la anastomosis lo cual llama la atención pues ocurre aproximadamente al 21 día de la lesión del intestino. (Diferenciación temprana).

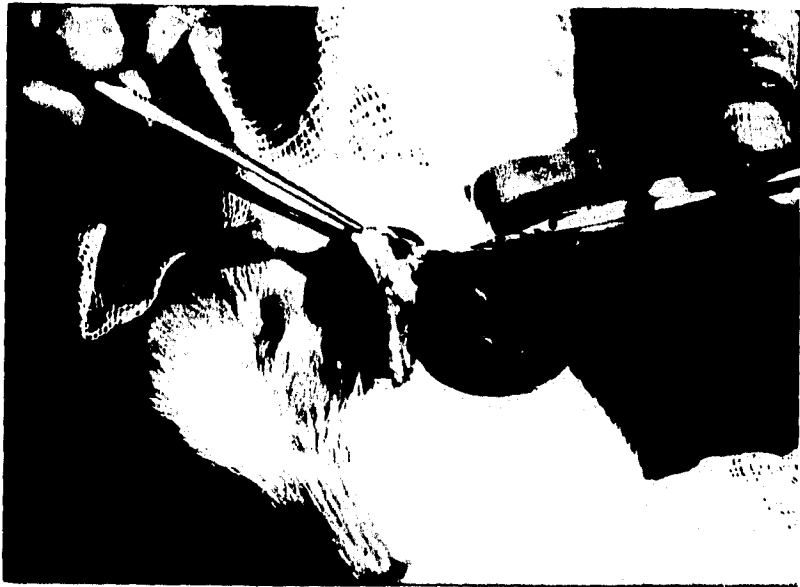
TABLA No 6
RESULTADOS MICROSCOPICOS

REACCION			
GRANULOMATOSA	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III
Ausente	0	2	4
Leve/moderada	2	8	6
Abundante	5	0	0

A pesar de que el material de sutura es el mismo para los tres grupos, la reacción a cuerpo extraño fué severa en el que no recibió AH.



RESULTADOS



FOTO# 1 Se observa la presencia de múltiples adherencias asa-asa y asa-pared gruesas, que amerita utilización de pinzas para su liberación del sitio de la anastomosis.

RESULTADOS



FOTO#2 Se observa escasas adherencias laxas en el sitio de la anastomosis. Su liberación no condiciona despulimiento de la serosa y puede lograrse en forma digital.

RESULTADOS



FOTO #3 No existe evidencia de oclusión y el paso de material fecal es fácil.

RESULTADOS



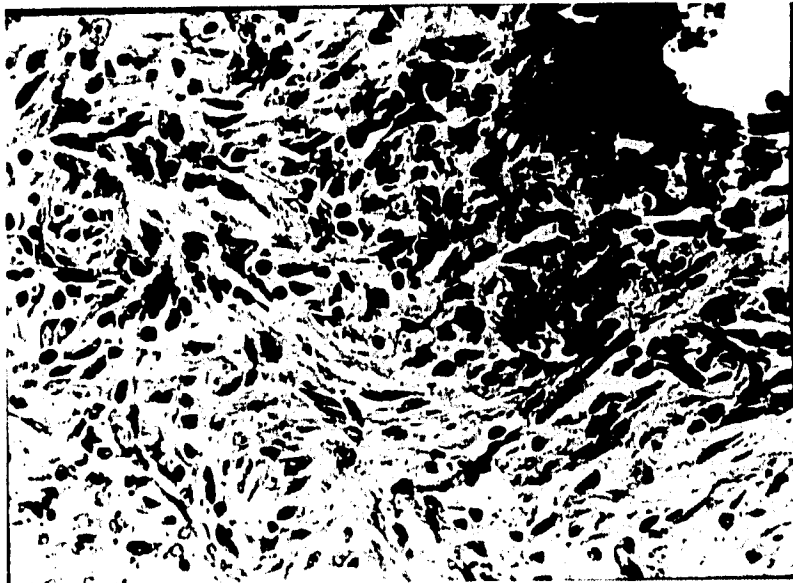
FOTO # 4 En la tinción de H-E se observa laminilla panorámica de la importante reacción inflamatoria y granulomatosa en el sitio de la anastomosis.

RESULTADOS



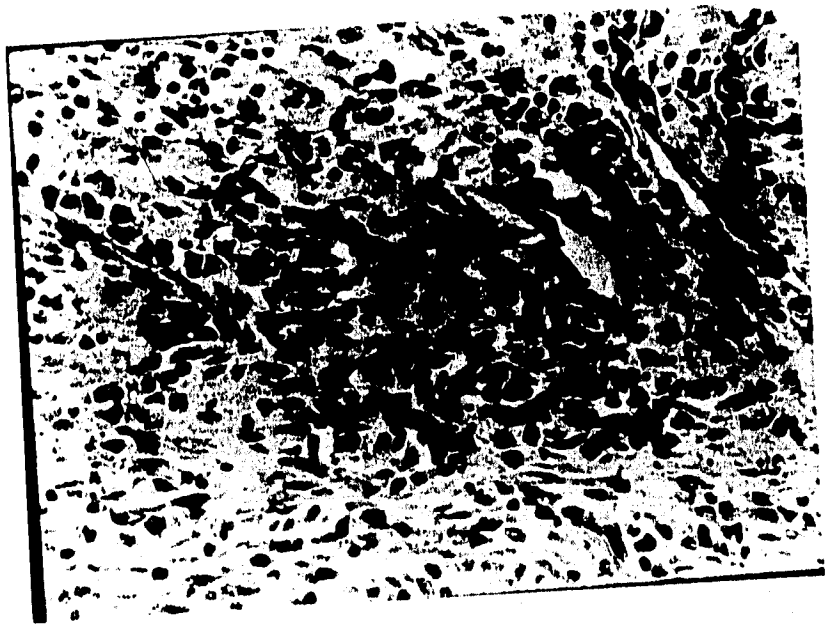
FOTO# 5 Acercamiento 100 X tinción de H-E, se observa abundantes polimorfonucleares en el sitio de la lesión del intestino y reacción " a cuerpo extraño " al material de sutura, con crecimiento hacia la luz.

RESULTADOS



FOTO#6 Tinción tricrómico de Masson, se observa disposición desorganizada de fibroblastos y células precursoras de fibras de colágena. (grupo control).

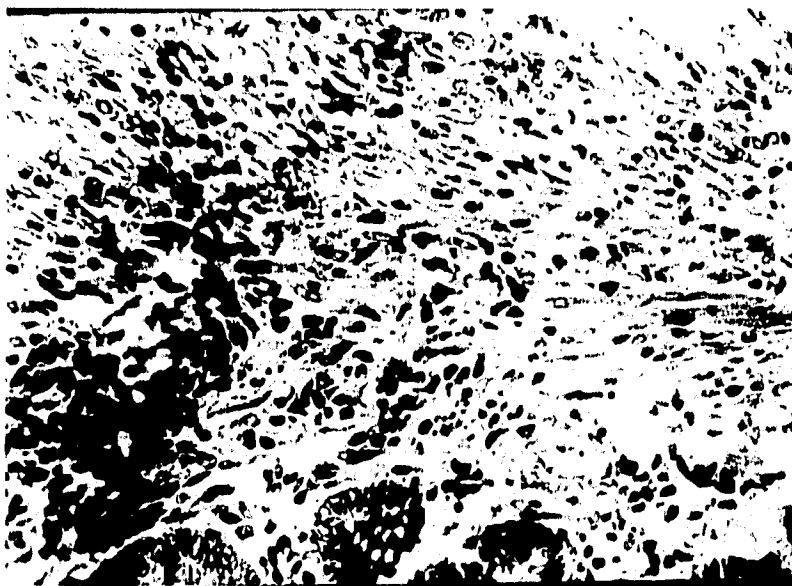
RESULTADOS



FOTO#7 Laminilla con tinción de H-E , 100 X que demuestra escasa
reacción inflamatoria aguda y crónica. Depósito abundante de fibroblastos.
Escasa reacción granulomatosa.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

RESULTADOS



FOTO#8 Tinción de tricrómico de Masson, abundante depósito de colágena madura, organización celular hacia el sitio de lesión "limpia" y escasas células de músculo liso que se acercan al borde de las heridas. Lamínilla que corresponde al grupo II.

RESULTADOS

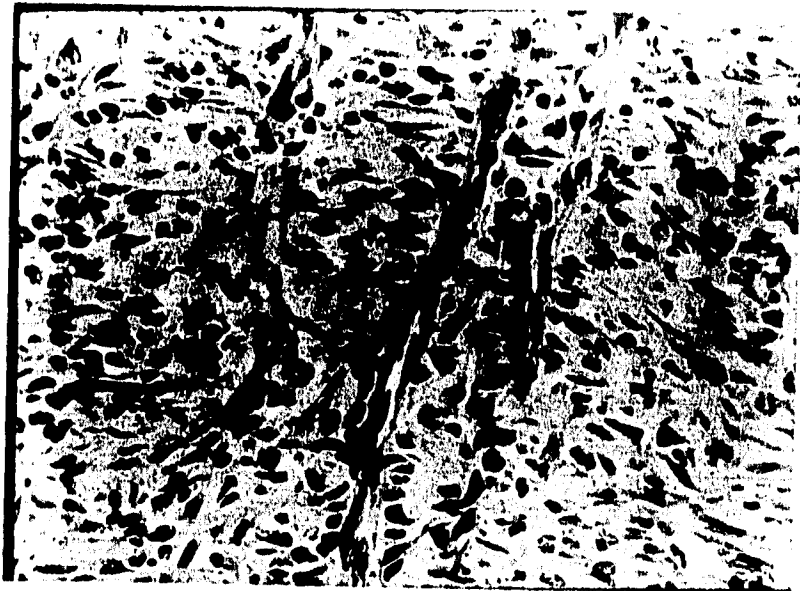


FOTO #9 Tinción tricrómico de Masson mismos hallazgos que en la anteriormente descrita. Abundante regeneración fibroblástica y depósito de fibras de colágena. Importante cantidad de fibras de músculo liso y gran vascularidad.

VI CONCLUSIONES

EXISTE LA POSIBILIDAD DE MANIPULACION FARMACOLOGICA DEL PROCESO DE REPARACION DE LOS TEJIDOS MEDIANTE LA UTILIZACION DE ACIDO HIALURONICO.

EL ACIDO HIALURONICO FAVORECE LA CICATRIZACION FIRME RESISTENTE Y NO ESTENOSANTE DEL INTESTINO DE LA RATA.

LA APLICACION LOCAL DE ACIDO HIALURONICO DISMINUYE EL NUMERO Y CONSISTENCIA DE ADHERENCIAS POSTOPERATORIAS.

EL ACIDO HIALURONICO ES UN ELEMENTO DISPONIBLE EN NUESTRO MEDIO, DE BAJO COSTO, ALTO RENDIMIENTO Y SIN EFECTO TOXICO REPORTADO.

EL PRESENTE ESTUDIO EXPERIMENTAL SE CONSIDERA COMO INICIAL PERO DEJA EL CAMPO ABIERTO A NUEVAS INVESTIGACIONES. SE PRETENDE INCREMENTAR EL NUMERO DE LA MUESTRA Y CON SIGNIFICANCIA ESTADISTICA EXTENDER SU UTILIZACION EN LA PRACTICA CLINICA.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Peacock EE Jr, Van Winkle W. Jr. Wound repair 2a edición. London; WB Saunders, 1976. 3a edición 1986.
- 2.- Brown GL, Wanney LB, Griffen J, et al. Enhancement of wound healing by topical treatment with epidermal growth factor. *N Engl J Med* 1989; 321: 76-79
- 3.- Folkman J, Szabo S, Stovroffin, McNeil P, Li W, Shing Y. Duodenal ulcer: Discovery of a new mechanism and development of angiogenic therapy which accelerates healing. *Ann Surg* 1991, 214; 414-427
- 4.- Adzick NS, Longaker MT. Scarless fetal healing: therapeutic implications. *Ann Surg* 1992; 3-7.
- 5.- Longaker MT, Chius ES, Adzick NS, et al. Studies in fetal wound healing: V. A prolonged presence of hyaluronic acid characterizes fetal wound fluid. *Ann Surgery* 1991; 213: 4; 292-296.
- 6.- Harrison MR, Adzick NS. The fetus as a patient: Surgical considerations. *Ann Surg* 1991; 213: 279-290.
- 7.- Sullivan WG. Intrauterine repair cleft lip: What's involved (Discussion). *Plast Reconstr Surg* 1990; 85; 466.

8.- Cicatrización de las Heridas. J.M. Menseld. Interamericana
2a edición. 1987. 126-131.

9.- De Palma RL, Krummel TM, Durham LA, III et al.
Characterization and quantitative of wound matrix in the fetal rabbit
Matrix 1989; 9: 224-230.

10.- Longacker MT, Chiu ES, Harrison MR, et al. Studies in fetal
wound healing: IV. Hyaluronic acid stimulating activity distinguishes
fetal wound fluid from adult fluid. Ann Surg 1989; 210: 667-672.

11.- Longacker MT, Harrison MR, Timothy M. et al. Studies in
fetal wound healing: I. A Factor in fetal serum that stimulates deposition of
Hyaluronic acid. J. Ped. Surg 1989; 24: 8; 789-792.

12.- Longacker MT, Adzick NS et al. Studies in fetal wound
healing. VII. Fetal wound healing may be modulated by Hyaluronic acid
stimulating activity in amniotic fluid. J. Pediatric Surg. 1990; 25: 430-
433.

13.- Hunt TK, Twomey P, Zederfeldt B. et al. Respiratory gas tensions
and pH in healing wounds. Am Journal Surg 1967. 114: 302-307.

14.- Schilling JA, Joel W, Shurley HM. Wound healing: A
comprehensive study of the histochemical changes in granulation tissue
contained in stainless steel Surg. 1970. 702.

15.- Tesis de Postgraduado "Uso de Colchicina experimentalmente para evitar adherencias postoperatorias " 1987.

16.-Tesis de postgraduado "Uso experimental de lecitina intraperitoneal para evitar la formación de adherencias. Estudio experimental en ratas.

17.- Silva Cuevas A, Pinito AV, Dávalos RG. Evaluación de cicatrización primaria en anastomosis de Intestino delgado. (Estudio experimental en cuyos) Bol Med Hosp Infant Mex. 1991. Vol 48, No 2 112-116.

18.- Silva Cuevas A, Calderón RAF, Aleman VP, Villalpando CR. La anastomosis en Intestino de pequeño calibre. Bol Med Hosp Infant Mex. 1988, 45: 311.315.

19.- Gillespie IE. Intestinal anastomosis. Br Med Journal 1983; 286: 1002-1004.

20.- MC Donald CC, baird RL. Intestinal anastomosis with onelayer. Am Surg 1981; 47; 439-440.

21.- L. Padilla S. y A. Vallr G. MANUAL DE MICROCIRUGIA Edit. Salvat Impreso en México 1983.

22.- TESIS CIRUGIA PEDIATRICA. "Anastomosis intestinal en un sólo plano con sutura no absorbible " Villalpando Canchola R., Silva Cuevas A.-