

11226



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO  
HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD  
PEMEX.  
DIRECCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION

125

EFFECTO DEL ACIDO HIALURONICO SOBRE LA  
CICATRIZACION DE LA TRAQUEA.  
ESTUDIO EXPERIMENTAL.



T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE  
ESPECIALISTA EN:

CIRUGIA PEDIATRICA

QUE PRESENTA:

DR. JOSE ADELFO SANTOS CORDERO

ASESOR: DR. ROGELIO JASSO VICTORIA



PEMEX  
PETROLEOS MEXICANOS

MEXICO, D.F.

SEPTIEMBRE DEL 2001



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.



PETROLEOS MEXICANOS  
 SUBDIRECCION DE SERVICIOS MEDICOS  
 GERENCIA DE REGULACION Y DESARROLLO MEDICO  
 HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD  
 DIVISION DE ESPECIALIZACION  
 COMISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
 FACULTAD DE MEDICINA  
 U. N. A. M.

*Guillermo B. Hernandez Morales*  
 DR. GUILLERMO B. HERNANDEZ MORALES  
 DIRECTOR

*Judith Lopez Zepeda*  
 DRA. JUDITH LOPEZ ZEPEDA  
 JEFE DE ENSEÑANZA

*Jesus A. Caballero Hermosillo*  
 DR. JESUS A. CABALLERO HERMOSILLO  
 JEFE DE INVESTIGACION

*Leopoldo Torres Contreras*  
 DR. LEOPOLDO TORRES CONTRERAS  
 PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE CIRUGIA PEDIATRICA

TUTOR  
 DR. ROGELIO JASSO VICTORIA  
 DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION EN CIRUGIA EXPERIMENTAL  
 INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS

- ASESORES
- DR. JOSE REFUGIO MORA FOL  
PEMEX
  - DR. RAUL OLMOS ZUÑIGA  
INER
  - DRA. AVELINA SOTRES VEGA  
INER
  - DR. PATRICIO SANTILLAN DOHERTY  
INCMNSZ
  - DR. MIGUEL GAXIOLA GAXIOLA  
INER
  - DR. LEOPOLDO TORRES CONTRERAS  
PEMEX

*Rogelio Jasso Victoria*  
*Guillermo B. Hernandez Morales*  
*Judith Lopez Zepeda*  
*Jesus A. Caballero Hermosillo*  
*Leopoldo Torres Contreras*

ESTE TRABAJO FUE REALIZADO EN EL DEPARTAMENTO  
E CIRUGIA EXPERIMENTAL DEL INSTITUTO NACIONAL  
DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS BAJO LA  
DIRECCIÓN DEL DR. ROGELIO JASSO VICTORIA, SU  
EXTRAORDINARIO GRUPO DE INVESTIGADORES Y  
TÉCNICOS A QUIENES LES TRIBUTO ETERNO  
AGRADECIMIENTO.

DEDICATORIA

ESPECIALMENTE A MIS HIJOS

*PEPE Y ALEX*

A MI ESPOSA

*HILDA*

*A MIS PADRES Y HERMANOS*

*A MIS MAESTROS Y AMIGOS*

*DR. ROGELIO JASSO VICTORIA*

*DR. REFUGIO MORA FOL*

*MC. RAUL OLMOS ZÚÑIGA*

*MC. AVELINA SOTRES VEGA*

*DR. LEOPOLDO TORRES CONTRERAS*

**“Si he logrado ver mas lejos, es porque me he aupado en  
hombros de gigantes”**

**I. Newton.**

## RESUMEN.

**Antos Cordero José Adelfo. Efecto del ácido hialurónico en la cicatrización de la traquea. Estudio experimental. ( Bajo la dirección del Dr. Rogelio Jasso Victoria).**

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la aplicación de ácido hialurónico sobre la cicatrización traqueal, después de realizar una traqueoplastia en perros.

*Material y métodos.* Se operaron 10 perros, que fueron divididos en 2 grupos de estudio. Grupo I: Se le hizo resección de tres anillos traqueales cervicales y traqueoplastia con aplicación intraluminal de ácido hialurónico. Grupo II: Resección de tres anillos traqueales cervicales y traqueoplastia convencional con aplicación intraluminal de solución fisiológica. A todos los animales se les realizó evaluación clínica, radiológica y endoscópica para observar la presencia o no, de estenosis traqueal. Tres semanas posteriores a la cirugía, los animales fueron sometidos a eutanasia y se les practicó evaluación macroscópica y microscópica del segmento traqueal operado. También se les realizó estudio morfométrico para medir el grado de estenosis y finalmente, la cicatriz formada en la anastomosis traqueal fue sometida a estudio bioquímico para cuantificar la cantidad de colágena formada en ésta. El análisis estadístico de todos los parámetros estudiados en las diferentes evaluaciones se hicieron mediante de Chi cuadrada, ANDEVA y t-Student.

*Resultados* Todos los animales sobrevivieron al procedimiento quirúrgico y al tiempo de estudio establecido sin presentar alguna alteración clínica. El estudio

diológico y endoscópico, mostró estenosis a partir de la segunda semana postrquirugía, la cual persistió hasta el final del estudio, en el 20% de los animales del grupo I y 60% de los animales del grupo II. A la evaluación macroscópica se observó la anastomosis bien sellada en ambos grupos, con presencia de tejido fibroso moderado en los perros del grupo I y abundante en todos los perros del grupo II. En el estudio microscópico el grupo de ácido hialurónico presentó menor inflamación, mejor ordenamiento y distribución organizada de las fibras de colágena en la zona de la anastomosis traqueal. En el estudio bioquímico, no hubo diferencia en la concentración promedio de colágena entre ambos grupos (MANDEVA NS,  $p = 0.2815$ ). Morfométricamente, no se presentaron cambios significativos. Con esto se concluye que el ácido hialurónico sí mejora la cicatrización en las anastomosis traqueales de perros.

## I. INTRODUCCIÓN.

El sistema respiratorio, es un conjunto de órganos cuya función principal es la de proporcionar el intercambio de oxígeno y dióxido de carbono (gases respiratorios) entre el organismo y el medio ambiente (9, 28). Este sistema se divide en parte superior e inferior en el humano, tomando como punto de división al cartílago cricoides. También se puede dividir en vías aéreas conductoras, vías aéreas respiratorias y vasos.

Las vías aéreas conductoras (narinas, senos paranasales, laringe, faringe, tráquea y bronquios), son una serie de compartimientos que permiten el movimiento de aire desde su entrada al organismo, hasta el área de intercambio gaseoso de los pulmones, así como para su salida de éste. Las vías aéreas conductoras también tienen función protectora al filtrar partículas como bacterias y polvo que entran con el aire inspirado, así como calentamiento y regular la proporción de humedad del mismo.

La tráquea, es un órgano tubular de forma circular que se encuentra sostenida por anillos cartilaginosos en forma de herradura, que se conectan por detrás mediante una membrana elástica (9, 31), posee una porción extratorácica y otra intratorácica; su función es llevar el aire inspirado ya sea por la nariz o boca, hacia las zonas de intercambio gaseoso.

Las vías respiratorias, sufren varias enfermedades de diversas causas, pero comparten ciertas características fisiopatológicas y clínicas como: la limitación del flujo respiratorio (provocado por la obstrucción intraluminal de la vía respiratoria,



engrosamiento de sus paredes o pérdida de la elasticidad de los tejidos intersticiales que es necesaria para conservar la permeabilidad de la vía aérea), hipersecreción de moco, irritabilidad de toda la vía respiratoria y anomalías del intercambio gaseoso que originan tos, producción de esputo, sibilancias y disnea (43).

Dentro de las enfermedades de las vías aéreas conductoras, sobresalen las estenosis ya sean de origen traumático ó postintubación.

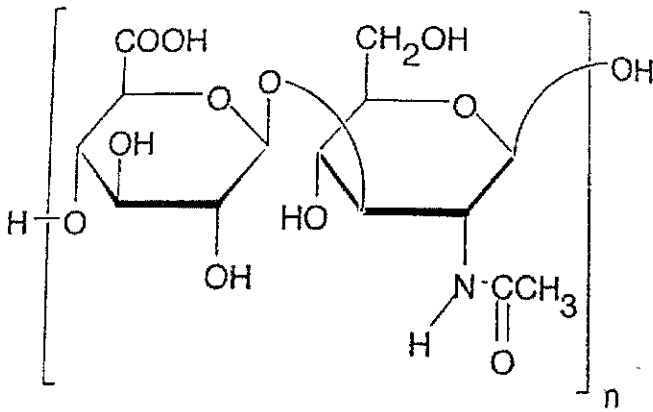
En la salas de cuidados intensivos pediátricas, comúnmente se presentan lesiones traqueales postintubación, debido a que los niños son ventilados por largo tiempo con tubos endotraqueales, produciendo lesiones y estenosis traqueal, de las cuales la más frecuente es la estenosis subglótica, que se presenta debido a la presión que ejerce el globo y el tubo endotraqueal sobre las paredes de la tráquea, provoca necrosis del tejido por presión, la cual sana con una cicatriz fibrosa que ocasiona la mayoría de la veces, disminución de la luz traqueal (15).

Las estenosis traqueales en niños, tienen como principal indicación la resección del segmento traqueal estenosado y la reconstrucción de ésta. Sin embargo en Cirugía Pediátrica, el manejo de anastomosis finas (tráquea, esófago, intestino, uréter, uretra) frecuentemente se complica con fibrosis y estenosis posquirúrgicas.

Para resolver este problema en adultos se ha intentado la utilización de diferentes tejidos prótesis o a la realización de un trasplante pero no han tenido el éxito deseado (43, 44, 45). Estas opciones de tratamiento no se han probado en niños debido a que el reducido tamaño de la tráquea, genera problemas técnicos difíciles de superar

Experimentalmente se han realizado estudios de la administración de colágeno polivinil pirrolidona después de realizar traqueoplastías en perros con el fin de evitar la cicatrización fibrosa y aunque ha tenido buenos resultados en animales, en pacientes humanos aún no se ha probado (25).

El ácido hialurónico (AH) que esta compuesto por unidades alternantes de ácido D-glucorónico y N- acetil glucosamine (Figura 1), es un componente de la matriz extracelular (MEC) de la herida fetal, el cual durante la fase temprana de curación de la heridas en los fetos crea un ambiente en el que favorece la proliferación, regeneración y reparación tisular disminuyendo la inflamación y la fibrosis (22). Estas propiedades de AH tienen implicaciones clínicas ya que puede ser posible modular la curación de las heridas en niños y adultos para hacerla lo mas parecida a la curación fetal, mediante la prolongada aplicación del AH en forma exógena (24).



Esquema 1 Estructura química del ácido hialurónico.

La última década ha sido prolífica en la investigación experimental sobre el empleo clínico del AH: en oftalmología se investiga su uso como sustituto vítreo (27). En neumatología la fase experimental ha sido superada y se emplea en la clínica para el tratamiento de la osteocondritis de rodilla (40, 49). En otorrinolaringología se emplea en forma de crema para sanar la mucosa después de cirugía nasal (41) y se investiga su utilidad como bioimplante para la mucosa de las cuerdas vocales (42). En cirugía plástica (10, 19) y dermatología se usa ya como expansor tisular en el tratamiento de heridas de piel, solo o combinado con otros productos sintéticos (43). En ginecología se estudia su aplicación para evitar la formación de adherencias intrabdominales postquirúrgicas (39, 47). En nefrología se investiga su utilidad para evitar adherencias intrabdominales en asociación con diálisis peritoneal (48). En urología se está experimentando su eficacia en la regeneración celular de la reconstrucción uretral (17, 18) y en el tratamiento endoscópico del reflujo vésico ureteral en el niño (21), actualmente ya se usa en el tratamiento de la cistitis intersticial refractaria (32). También se ha utilizado para mejorar en la cicatrización intestinal (11), en el mecanismo de cicatrización del esófago con quemaduras por cáustico en ratas (33) y en la anastomosis de uretra (16).

Con base en lo anterior en este estudio se propone la utilización del ácido hialurónico, aplicado exógenamente para disminuir las reestenosis traqueales postquirúrgicas.

## II. JUSTIFICACION

La tráquea en el niño es un órgano expuesto a patología congénita o adquirida, cuyo tratamiento de elección lo constituye la cirugía; sin embargo, ésta frecuentemente se complica con estenosis traqueal provocada por el proceso de cicatrización, por lo que se requiere de la modulación de ésta. Es por lo que en este trabajo se propone la utilización del Acido Hialurónico para modular la regeneración celular, disminuir la fibrosis y estenosis posquirúrgica, ya que hay evidencias de que éste ácido durante la cicatrización fetal, es el que modula la organización de la colágena y evita la fibrosis de las heridas.

## I. HIPÓTESIS.

Si el ácido hialurónico es un modulador de la regeneración celular y disminuye la formación de cicatriz en el feto, nosotros consideramos que la aplicación de éste, después de una traqueoplastía, podría evitar la estenosis cicatrizal posquirúrgica

## IV. OBJETIVOS

### 1. *Objetivo General.*

Determinar el efecto de la aplicación de ácido hialurónico sobre la cicatrización traqueal, después de realizar una traqueoplastía en perros.

### 2. *Objetivos Específicos.*

Evaluar los cambios macroscópicos y microscópicos producidos por el ácido hialurónico sobre la cicatriz formada, después de realizar una traqueoplastía en perros

Evaluar la presencia de estenosis post-traqueoplastia en perros, tratados con ácido hialurónico.

Determinar la cantidad de colágena formada en la traquea, post-traqueoplastía, en perros tratados con ácido hialurónico.

## I. HIPÓTESIS.

Si el ácido hialurónico es un modulador de la regeneración celular y disminuye la formación de cicatriz en el feto, nosotros consideramos que la aplicación de éste, después de una traqueoplastia, podría evitar la estenosis cicatrizal posquirúrgica.

## IV. OBJETIVOS

### 1. *Objetivo General.*

Determinar el efecto de la aplicación de ácido hialurónico sobre la cicatrización traqueal, después de realizar una traqueoplastia en perros

### 2. *Objetivos Específicos.*

Evaluar los cambios macroscópicos y microscópicos producidos por el ácido hialurónico sobre la cicatriz formada, después de realizar una traqueoplastia en perros.

Evaluar la presencia de estenosis post-traqueoplastia en perros, tratados con ácido hialurónico.

Determinar la cantidad de colágena formada en la traquea, post-traqueoplastia, en perros tratados con ácido hialurónico

## **V. MATERIAL Y METODOS.**

### ***1. Tipo de estudio.***

Se realizó un estudio prospectivo, longitudinal y analítico, de tipo experimental en perros.

### ***2. Animales de experimentación.***

Se utilizaron 10 perros mestizos, sanos, sin importar el sexo o la edad, con un peso entre 15 y 18 Kg.

Todos los animales fueron tratados de acuerdo a las Normas para el Uso de Animales de Laboratorio de México (34) y la Guide for the Care and Use of Laboratory Animals de los Estados Unidos de Nort America (13).

#### ***2.1 Criterios de inclusión.***

Se incluyeron perros clínicamente sanos, que no presentaron antecedentes de alguna enfermedad respiratoria desde que llegaron al bioterio del INER y antes de que se les realizara el procedimiento quirúrgico.

## **2 Criterios de exclusión.**

Los animales con datos clínicamente patológicos a su llegada al INER y previos al procedimiento quirúrgico o con antecedentes de alguna cirugía de tórax fueron excluidos del estudio.

## **3 Criterios de eliminación.**

Todo animal que presentó signos clínicos de cualquier patología que no se provocó por el procedimiento quirúrgico, fue eliminado.

## **4. Recursos.**

El financiamiento de esta investigación fue otorgado por el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER), Instituto Nacional de Ciencias Médicas y de la Nutrición "Salvador Zubirán" (INCMNSZ), Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT (Proyecto REF: F643).

En este estudio participaron los investigadores y técnicos del Departamento de Investigación en Cirugía Experimental del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias y del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y de la Nutrición "Salvador Zubirán", quienes proporcionaron los quirófanos, equipos de anestesia inhalada, monitores, aparato de rayos X e instrumental necesario para la



realización de los procedimientos quirúrgicos, los tratamientos y seguimiento postoperatorios de los animales.

El equipo de endoscopia que se utilizó, fue proporcionado por Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) (Proyecto REF: F643).

También intervino en este estudio el personal del Departamento de Investigación en Morfología del INER, quién procesó las muestras de los tejidos sometidos a estudio. El responsable de la descripción de los hallazgos histopatológicos, fue el patólogo de este departamento Dr. Miguel Gaxiola Gaxiola.

El análisis bioquímico lo realizó la Maestra en Ciencias Avelina Sotres Vega.

#### ***4. Grupos de Estudio.***

Los animales fueron divididos en 2 grupos de estudio:

**Grupo I (n=5):** Resección de tres anillos traquéales cervicales y traqueoplastia convencional con aplicación intraluminal de ácido hialurónico.

**Grupo II (n=5):** Resección de tres anillos traquéales cervicales y traqueoplastia convencional con aplicación intraluminal de solución fisiológica.

## 5. Anestesia.

Los animales se prepararon con 24 horas de ayuno para sólidos y 12 horas para líquidos.

La anestesia en todos los grupos de estudio se indujo con hidrocloreto de xilacina (Rompun, Bayer) a dosis de 0.1 mg/Kg. y 6 mg/kg. de propofol (Recofol, PISA) vía intravenosa (IV) mezclados en la misma jeringa e inmediatamente después se les aplicó dipirona (Metamizol Sódico-Nondol-Sector Salud) a dosis de 28 mg/Kg. IV como analgésico (14, 26).

Una vez anestesiados, los animales fueron colocados sobre la mesa de cirugía en posición decúbito dorsal y se intubaron con una sonda orotraqueal con globo.

Acto seguido se rasuró y lavó con jabón quirúrgico la región traqueal cervical, con límite craneal en la región de la mandíbula y límite caudal con el hueco supraesternal. Finalmente se realizó la antisepsia de la zona con yodo povidona (Dermodine Solución, Dermodex S.A. de C.V.)

Posterior a esto cada animal fue colocado sobre la mesa de cirugía en posición decúbito dorsal y se conectó la cánula orotraqueal a un ventilador de volumen (Harvard Apparatus, Boston MA, USA) con un vaporizador (Isotec 3 Ohmeda) y la anestesia se mantuvo con Isoflurano al 1.5%. Todos los animales se ventilaron con un volumen corriente de 10 ml/Kg. y una fracción inspirada de oxígeno ( $F_{iO_2}$ ) de 100% y 20 respiraciones por minuto, durante todo el procedimiento quirúrgico y

se vigilaron los signos vitales con un monitor para electrocardiografía (Datascop Passport) .

### **3. Técnica quirúrgica.**

Se realizó una incisión media en la región cervical ventral, se disecó el tejido celular subcutáneo y platisma hasta llegar a los músculos infrahioideos (esternohioideo y esternotirohioideo) los cuales se separaron en la línea alba hasta llegar a la tráquea, esta se disecó en toda su circunferencia (Figura 1) y se resecaron tres anillos traqueales (Figura 2) finalmente, se realizó anastomosis término terminal con material absorbible 3 ceros (Vicryl, Ethicon) con puntos separados (Figura 3). Terminada la traqueoplastia se cerró por planos sin dejar drenaje. En el grupo I al finalizar la cirugía y antes de recobrase de la anestesia se les introdujo un broncoscopio y se aplicó 15 Microgramos de ácido hialuronico cada tercer día durante 3 semanas, esto se realizó bajo anestesia y dirigiendo una sonda orogástrica para instilar el ácido hialuronico sobre la circunferencia interna de la anastomosis(Figura 4 y 5), el ácido hialuronico estuvo concentrado en 3 mililitros de solución destilada; en el grupo II se les instiló solución fisiológica. En el postoperatorio inmediato a todos los animales de ambos grupos, se les aplicó Metamizol a dosis de 28 mg/Kg. como analgésico cada 6 horas durante los primeros 3 días post-cirugía. También se les administró penicilina procaínica (22,000 UI/Kg , IM) más 500 mg de sulfato de estreptomicina IM durante 7 días.

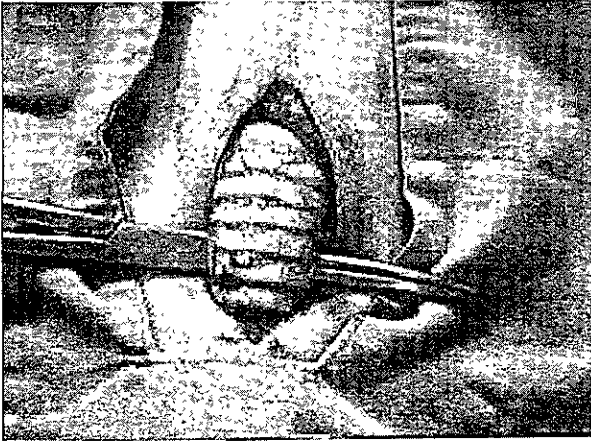


Figura 1. Muestra la incisión en la línea media cervical y la traquea disecada y expuesta.

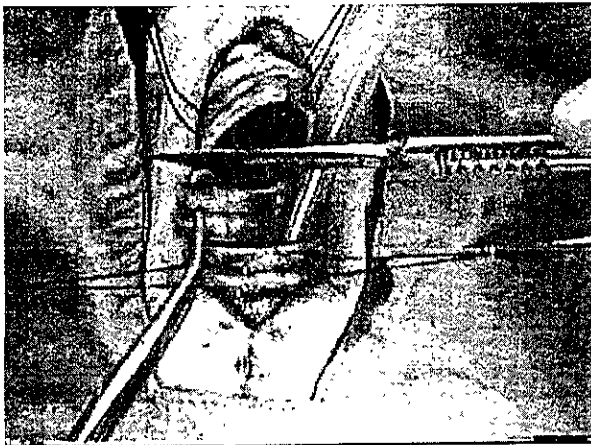


Figura 2. Se observa la forma en que fue resecado el segmento traqueal. Manteniendo intubado el extremo distal de la traquea.

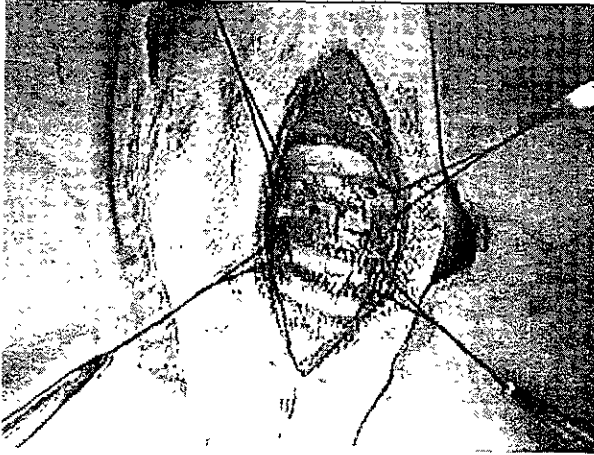
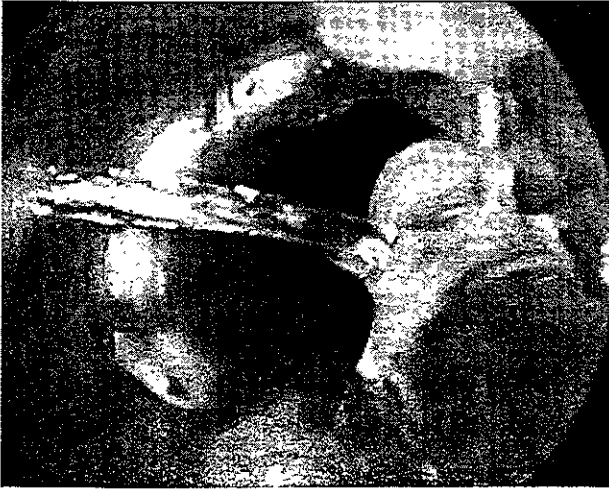


Figura 3. Traqueoplastia terminada.



Figura 4. Se observa por traqueoscopia la anastomosis y la cánula con la que se instiló el fármaco



**Figura 5.** Muestra la instilación del fármaco sobre la anastomosis traqueal mediante endoscopio.

## **7. Evaluación.**

### **7.1 Clínica.**

Se realizó evaluación clínica diaria durante la primer semana posquirúrgica y cada tercer día, durante dos semanas restantes del estudio. Se evaluó el grado de disnea de acuerdo a una escala modificada a la utilizada por la Medical Research Council (42), la cual se basa en la severidad de ésta . 0 = sin dificultad para respirar después de correr, 1 = dificultad para respirar después de correr, 2 = dificultad para respirar en reposo

La evaluación clínica consistió en realizar observación de cada animal dentro de su jaula, toma de temperatura, observación de la coloración de mucosa oral, auscultación de la cavidad torácica mediante estetoscopio, para evaluar la frecuencia respiratoria, ruidos respiratorios, estridor al ladrido y frecuencia cardíaca. Después de la cirugía, también se valoró la presencia de infección y sangrado de la herida quirúrgica.

El grado de disnea fue evaluado sometiendo a los animales a una prueba de esfuerzo, la cual se llevó a cabo primero observando a los animales en reposo dentro de su jaula, posteriormente cada animal caminó una distancia de 20 metros y finalmente se les lanzó una bola de carne para que los animales fueran corriendo por ella (recorriendo la misma distancia) e inmediatamente después de esto, se observó si los animales presentaban dificultad para respirar, vigilando la frecuencia cardíaca y respiratoria, escuchando los ruidos respiratorios, el estridor al ladrido, se observó si presentaban respiración torácica o abdominal, así como la coloración de la mucosa oral.

## **7.2 Radiológica.**

Se tomaron placas de rayos X laterales de cuello para evaluar radiográficamente el estado de la traqueoplastia al tercer día postcirugía y posteriormente cada semana hasta finalizar el estudio. En estas, se evaluó el porcentaje de estenosis y la configuración de la misma (centrípeta o lateral), tomando como referencia del diámetro anteroposterior de la traquea nativa.

### **7.3 Endoscópica.**

Se realizó evaluación visual directa de la anastomosis traqueal mediante traqueoscopia al momento de la instilación del ácido hialurónico o solución fisiológica y se evaluó la estenosis y el estado de la anastomosis, inmediatamente después de la cirugía y cada tercer día, durante las 3 semanas que duró el estudio.

Los procedimientos se filmaron en videocassetra VHS. La estenosis se valoró de acuerdo a la escala descrita por Cotton (8): Grado I = sin obstrucción de la luz hasta un 50% , Grado II = de un 51% de obstrucción de la luz hasta 70%, Grado III = de 71% hasta 99%, Grado IV = lumen no detectable.

### **7.4 Macroscópica.**

Una vez transcurridas 3 semanas postcirugía los animales fueron sometidos a eutanasia con sobredosis de pentobarbital sódico (Anestosal) y evaluación macroscópica y microscópica de la anastomosis.

Macroscópicamente se revisó el estado de la anastomosis, la cicatrización extraluminal, la presencia de dehiscencia, infección, así como la formación de fistulas. Para evaluar el estado de la mucosa, el lumen y la cicatriz de la traquea, se retiró el segmento anastomosado y se incidió por la parte membranosa de la tráquea evaluándose la estenosis y tipo de cicatriz formada.



### **7.5 Microscópica.**

Para la evaluación microscópica se tomaron muestras de los sitios de anastomosis las cuales se fijaron en formaldehído al 10%, se incluyeron en parafina, se realizaron cortes de 4  $\mu$ m y se tiñeron con hematoxilina-eosina y tricrómica de Massón para evaluar la presencia de vasos de neoformación, inflamación o fibrosis.

### **7.6 Morfométrica.**

Morfométricamente se evaluó la posible estenosis de los anillos traqueales anastomosados y se compararon con los anillos obtenidos antes de realizar la anastomosis traqueal. Esta medición se realizó al finalizar el estudio en los cortes histológicos con la ayuda de un procesador digital computarizado para análisis de imágenes con sistema software (Imagenia 2000 Biocom, Version 2.0) y se les midió su diámetro interno y externo

### **7.5 Bioquímica.**

En la evaluación bioquímica se determinó la concentración de hidroxiprolina por gramo de tejido traqueal. La determinación se realizó por el método de Woessner (37) en dos muestras de la misma muestra traqueal; la primera de ellas se tomó inmediatamente después de la traqueoplastia, la segunda muestra se tomó

Concluido el estudio. Las muestras se colocaron cada una dentro de un vial que se pesó previamente, inmediatamente después de colocar la muestra se obtuvo el peso "mojado" y posteriormente se mantuvo en una estufa a 80°C hasta la obtención del peso "seco" de las muestras.

Obtenido el peso "seco", las muestras se hidrolizaron con ácido clorhídrico 6N (J.T.Baker) durante 36 horas. Transcurrido este tiempo, las muestras se filtraron y se colocaron en una evaporadora hasta eliminar el exceso de ácido clorhídrico. El residuo obtenido, se llevó a pH 7.0 y se aforó a un volumen de 10 ml con agua destilada, de esta última dilución, se tomaron una alícuota de volumen variable de acuerdo con cada una de las muestras para la determinación de la concentración de hidroxiprolina presente en la muestra.

Para realizar la determinación de hidroxiprolina, se preparó una curva estándar que contenía 1 mg de hidroxiprolina/1 ml de agua (SIGMA,Co), se ajustó para la preparación de los estándares de hidroxiprolina en concentraciones de 200, 400, 600, 800 y 1000  $\mu$ l de hidroxiprolina y se incluyó un blanco que contuvo agua destilada. Posteriormente, en todos los tubos se adicionó: 1 ml de cloramina T (SIGMA Co) 0.05M disuelta en metilcelosolve (SIGMA Co), agua y amortiguador de fosfatos pH 6.0, 1 ml de ácido perclórico 3.0N (J.T. Baker), 1 ml de solución de 2,4,6-trinitrofenilmetilaminobenzaldehído (SIGMA Co) al 20% en metilcelosolve. El ensayo se incubó durante 20 minutos a 60°C y concluido el tiempo de incubación, se obtuvo la absorbancia de cada muestra, para esto se utilizó un espectrofotómetro (DU 640,Beckman) ajustado a una longitud de onda de 560 nm

## 7.6 Análisis estadístico de datos.

El análisis estadístico del grado de disnea, estenosis, la presencia de vasos de neoformación, inflamación, fibrosis, morfometría y la determinación de colágena se realizó mediante las pruebas de Chi cuadrada, ANDEVA y t-Student. Los valores de  $p < 0.05$  fueron considerados como significativos.

## VI. RESULTADOS.

### *. Hallazgos Clínicos.*

Todos los animales sobrevivieron al procedimiento quirúrgico y completaron su tiempo de estudio. En los dos grupos, ningún animal presentó alguna diferencia clínica importante que amenazara su vida, ya que sus constantes fisiológicas (temperatura, frecuencia cardíaca y frecuencia respiratoria) se encontraron dentro de los parámetros normales. No existió disnea en ningún animal (Cuadro 1). El estridor al ladrido, se presentó en el 0 % del grupo I y 60 % (n=3) del grupo II, sin que éste afectara su ventilación.

La revisión de la herida quirúrgica demostró inflamación y dolor leve durante la primera semana posquirúrgica en ambos grupos. En ningún animal se presentó sangrado postoperatorio, ni dehiscencia de herida quirúrgica. La herida quirúrgica en ambos grupos se encontró bien cicatrizada a las 2 semanas postcirugía.



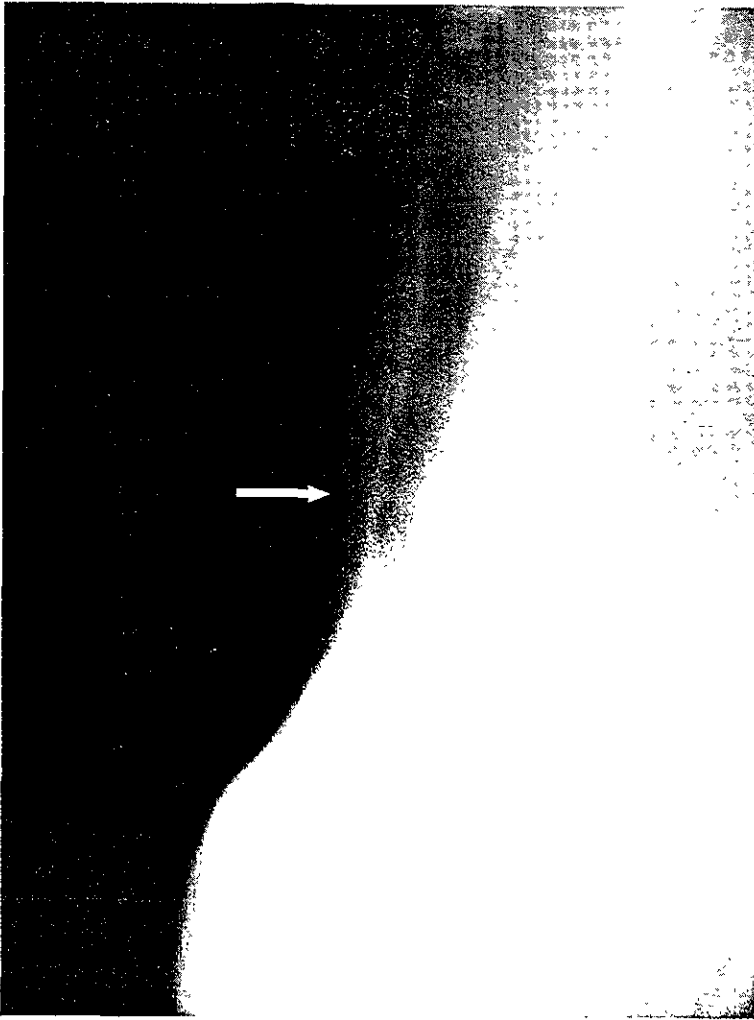
Evaluación de la Disnea		
Grado	Grupo I	Grupo II
0 (Sin dificultad para respirar después de correr)	5	5
1 Dificultad para respirar después de correr)	0	0
2 Dificultad para respirar en reposo)	0	0

Cuadro 1. Muestra el grado de disnea en los dos grupos de estudio después de la resección y traqueoplastía.

#### *Hallazgos Radiológicos.*

Radiológicamente, al observar las placas laterales de cuello, tomadas a la segunda semana de la traqueoplastía, se observó la presencia de estenosis concéntrica del 50% de la luz, en el 40 % (n =2) de los animales del grupo I, sin embargo en un animal, ésta desapareció a la segunda semana postcirugía (Figura 6) y solo un animal de este grupo (20%) presentó estenosis concéntrica del 50% al final del estudio.

Mientras que en el 60 % (n = 3) de los animales del grupo II, mostraron estenosis concéntrica de la luz del 50% durante todo el tiempo de estudio (Figura 7).



**Figura 6.** Placa radiográfica lateral de un animal del Grupo I en donde se muestra la zona de la anastomosis (flecha) sin alteración alguna.

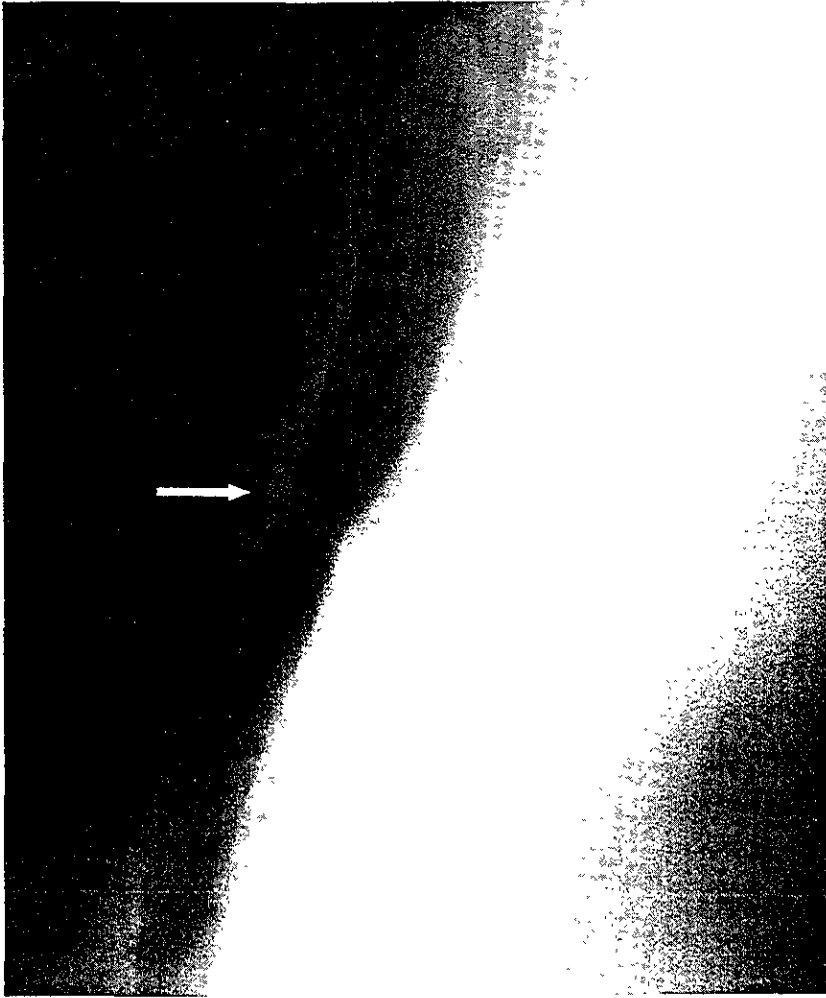


Figura 7. Placa radiográfica lateral de un animal tratado con solución salina fisiológica en el que se observa la zona de la anastomosis (flecha) disminuida en su calibre.

### ***Hallazgos Endoscópicos.***

En el grupo I, el 80% de los animales presentó evolución endoscópica satisfactoria (Figura 8 y 9) y solo un perro (20%) presentó estenosis grado I, de acuerdo con la escala de Cotton (8), con reducción de la luz de la traquea del 50%. Con respecto al estado de la anastomosis, el 100% de los animales presentó desarrollo de tejido cicatricial sobre ambos bordes de la traqueoplastia a los 7 días después de haberse realizado la cirugía. Durante los primeros 3 días, la mucosa traqueal se mostró hiperémica y edematosa, pero estos signos ya no fueron aparentes en la segunda semana postcirugía.

En los animales del grupo II, durante la primera y segunda semana se presentó estenosis del 50% (Grado I) en el 40% (n=2) de los perros y en la tercera semana en el 60% (n=3) de ellos, la cual se mantuvo hasta el final del estudio (Figura 10 y 11). También en este grupo, el 100% de los animales presentaron cicatrización de la traqueoplastia a los 7 días. La mucosa traqueal en este grupo se encontró edematosa e hiperémica en todos los animales operados durante las 2 primeras semanas del estudio. En un animal de este grupo la hiperemia y el edema se mantuvo hasta el final del estudio.

Asimismo, durante la traqueoscopia se pudo observar que la estenosis del animal del grupo I era laxa y permitió el paso del endoscopio sin dificultad, no así en las estenosis del grupo control, las cuales fueron de consistencia fuertes, difíciles de vencer y sangraron al paso del endoscopio.



Figura 8. Traqueoscopia en la que se observa el estado de la anastomosis a la primera semana postcirugía, sin hiperemia ni edema en un animal del grupo I.

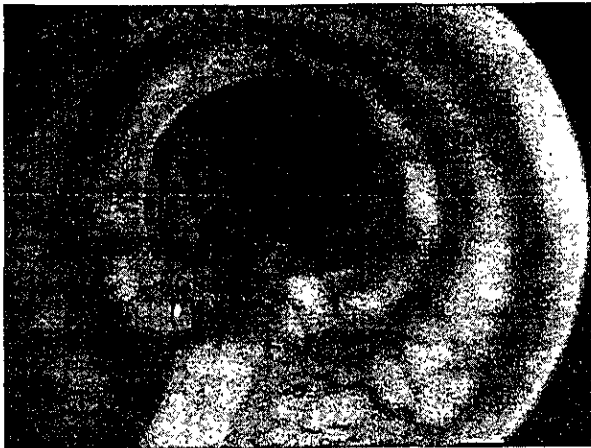


Figura 9. Traqueoscopia que muestra el estado de la anastomosis al final del estudio en el mismo animal del grupo I.



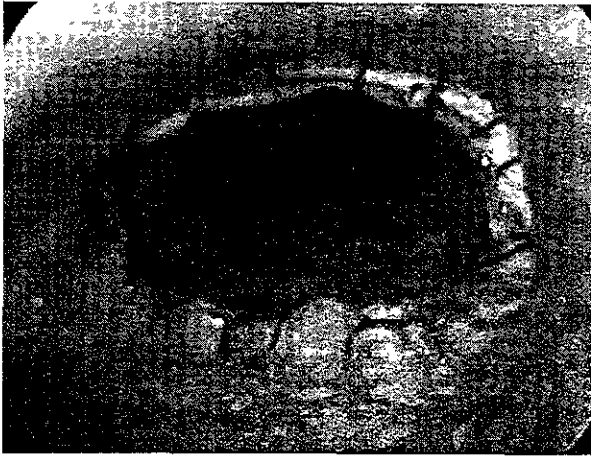


Figura 10. Traqueoscopia de un animal del grupo II, una semana después de la cirugía donde se observa edema e hiperemia de la anastomosis y reducción de la luz traqueal.

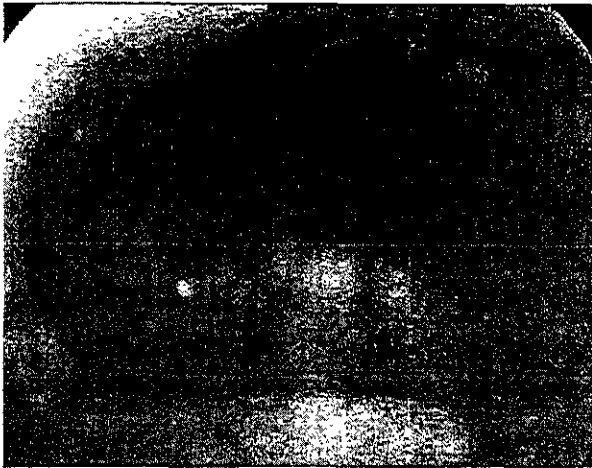


Figura 11. Traqueoscopia del mismo animal del grupo II, que muestra reestenosis de la anastomosis traqueal al final del estudio.

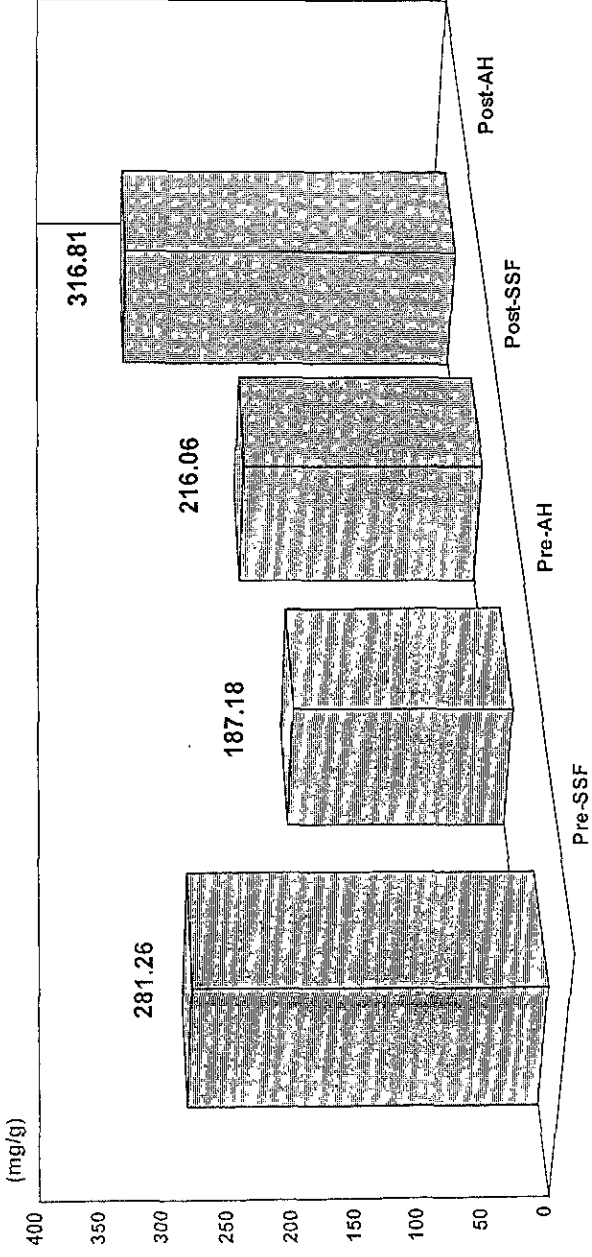
Al correlacionar la evaluación radiológica con la endoscópica, nos pudimos dar cuenta que independientemente de la técnica utilizada para evaluar la estenosis traqueal, al comparar la aplicación de ácido hialurónico vs solución salina fisiológica; encontramos que las tráqueas a las que se les aplicó SSF presentaron mayor porcentaje de estenosis con reducción de la luz traqueal estadísticamente significativa (Ji cuadrada  $p < 0.05$ ) (Gráfica 1).

#### ***4. Hallazgos Macroscópicos.***

Cuando los animales fueron sometidos a eutanasia, a la evaluación macroscópica ningún grupo presentó evidencia alguna de dehiscencia, infección o fístulas. En ambos grupos, la anastomosis estaba bien sellada

Se observó presencia de tejido fibroso moderado y de consistencia laxa (Figura 2) así como la presencia de aparentes vasos de neoformación a nivel de la anastomosis, tanto sobre el cartílago como sobre la mucosa en los perros del grupo I, mientras que en el 100% de los animales del grupo II el tejido fibroso fue abundante y de consistencia firme.

# Concentración de colágena en el tejido traqueal



Gráfica 1: Concentración promedio de colágena expresada en (mg colágena/g tejido) antes y después de la aplicación de SSF y de AH. La comparación estadística entre los tres grupos de estudio ANDEVA y t-Student : ns. SSF = solución salina fisiológica, AH = ácido hialurónico.

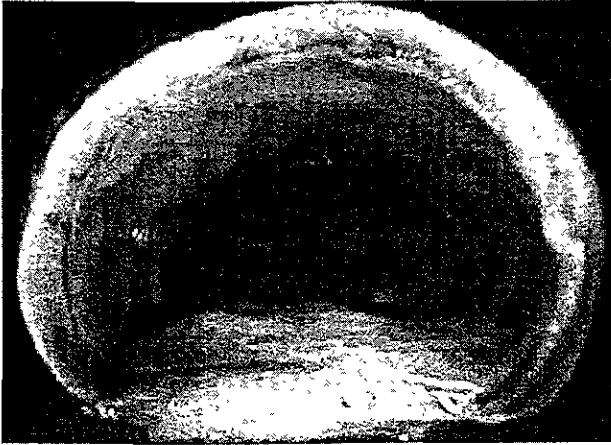


Figura 12. Pieza quirúrgica macroscópica del animal del grupo I en el que se presentó reestenosis

### ***5. Hallazgos Microscópicos.***

Al evaluar la histología de los animales del grupo de ácido hialurónico (grupo I), 4 perros (80 %) mostraron desarrollo de nuevas fibras de colágena densa, delgada, elástica y bien organizada (Figura 13), también estos animales presentaron reacción inflamatoria leve en la submucosa serosa y lámina propia de la tráquea, en 2 de éstos sujetos de estudio se observó hemorragia en el epitelio y lámina propia. En un animal de este grupo, se presentó reacción inflamatoria intensa a base de linfocitos en todas las capas de la tráquea, con reacción granulomatosa al material de sutura, y formación de fibras de colágena gruesas y desordenadas.



**Figura 13.** Fotomicrografía, que muestra una capa de fibras de colágena bien organizada (C) alrededor del material de sutura (S). Tinción Masson 10x.

En el grupo II en todos los casos (100%) se observó fibrosis, caracterizada por la formación de nuevas fibras de colágena gruesas y desordenadas, 2 de estos animales presentaron inflamación leve en la lamina propia. Los otros 3 animales (60 %) en todas las capas de la tráquea, mostraron inflamación severa a base de linfocitos, con presencia de células gigantes a cuerpo extraño en la zona de las suturas (Figura 14), además 2 de estos animales presentaron hemorragia en la lamina propia



**Figura 14.** Fotomicrografía que muestra el granuloma (G) formado en un animal del grupo II, también se observa el infiltrado inflamatorio severo (flecha). Tinción H-E 2.5x.

### 6. Hallazgos Bioquímicos.

En el 100% de los animales sometidos a estudio, la concentración de miligramos de colágena por gramo de tejido se incrementó después de la cirugía y aplicación del ácido hialurónico y de la SSF. En el grupo I, la concentración de colágena promedio  $\pm$  DE antes de la cirugía fue de  $281.26 \pm 39.23$  mg de colágena/g de tejido y después de la cirugía con aplicación de ácido hialurónico fue de  $316.81 \pm$

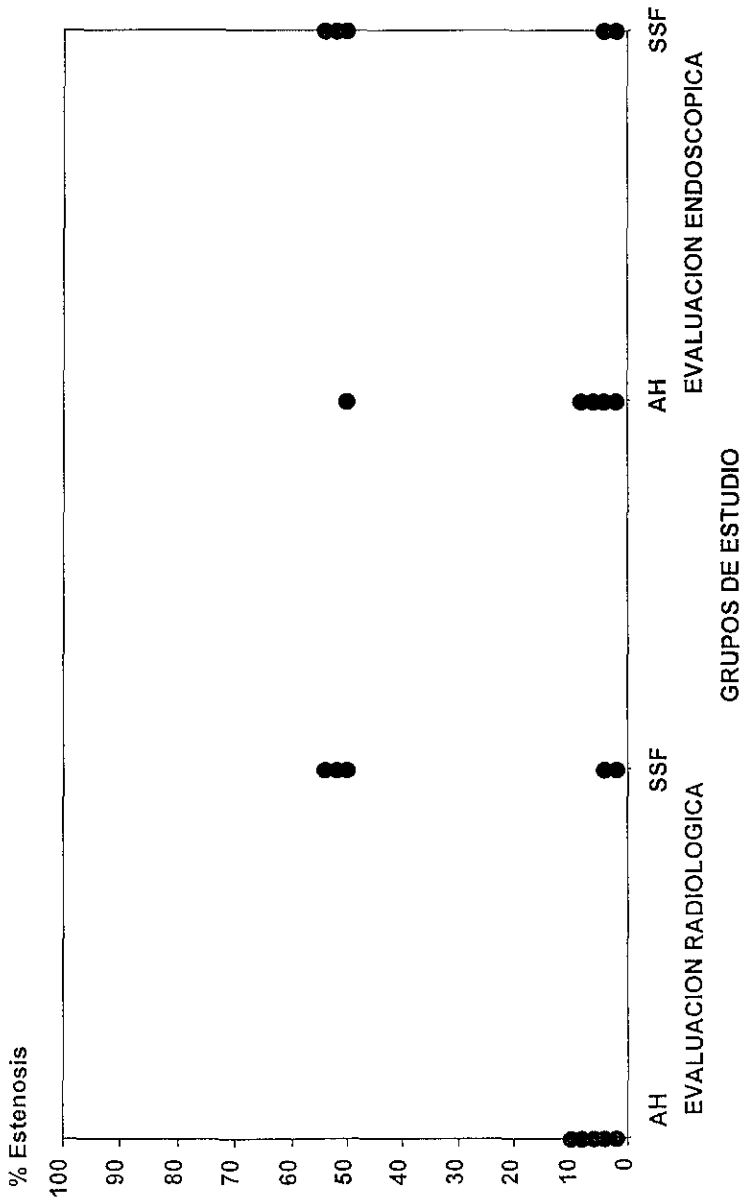
56.56 mg de colágena/g de tejido. Mientras que en el grupo II antes de la cirugía fue de  $187.18 \pm 28.20$  mg de colágena/g de tejido y postcirugía con aplicación de SSF fue de  $216.06 \pm 94.66$  mg de colágena/g de tejido. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar las concentraciones de colágena dentro de cada grupo (ANDEVA: antes de la cirugía vs postcirugía y ácido hialurónico p NS ( $p = 0.0661$ ), antes de la cirugía vs postcirugía SSF p NS ( $p = 0.1926$ ) y entre los 2 grupos de estudio (t-student antes de la cirugía grupo I vs antes de la cirugía grupo II p NS ( $p = 0.0753$ ), postcirugía y SSF vs postcirugía y ácido hialurónico p NS ( $p = 0.2815$ )). (Cuadro 2) (Gráfica 2)

Cuantificación de Colágena en mg/g de tejido traqueal		
	Grupos de Estudio	
	Acido Hialurónico	Solución Salina Fisiológica
Pre-cirugía	$187.18 \pm 28.20$	$281.26 \pm 39.23$
Post-cirugía	$216.06 \pm 94.66$	$316.81 \pm 56.56$

P= NS (ANDEVA y t-Student)

**Cuadro 2.** Concentración de mg de colágena promedio  $\pm$  DE / g de tejido en los grupos de estudio SSF (solución salina fisiológica). AH (ácido hialurónico). ANDEVA y t-Student entre las 4 concentraciones promedio p=ns.

# REDUCCION DE LA LUZ TRAQUEAL



Grafica 2: Porcentaje de estenosis con evaluación radiológica (AH vs SSF:  $\chi^2$ ,  $p < 0.05$ ) y con evaluación endoscópica (AH vs SSF:  $\chi^2$ ,  $p < 0.005$ ). AH= Acido Hialurónico. SSF= Solución Salina Fisiológica.

• = cada uno de los 5 perros que integran los grupos de estudio.



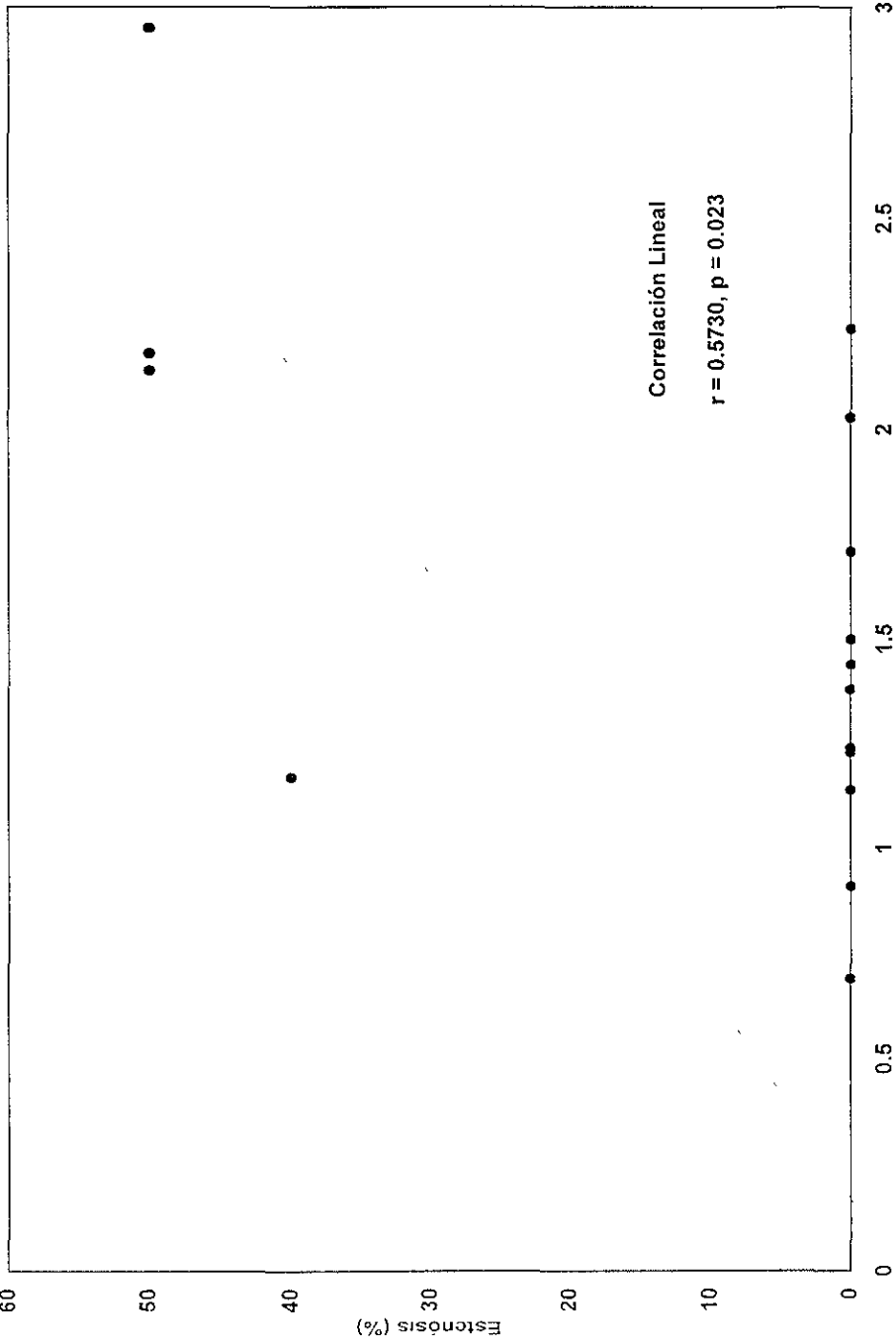
### **. HALLAZGOS MORFOMETRICOS.**

o se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar los parámetros morfométricos entre ninguno de los grupos, sin embargo se encontró una correlación estadísticamente significativa entre el porcentaje de estenosis observado y el área externa ( $r= 0.5783$ ,  $p=0.02$ ) (Cuadro 3) (Gráfica 3) (Diagrama ).

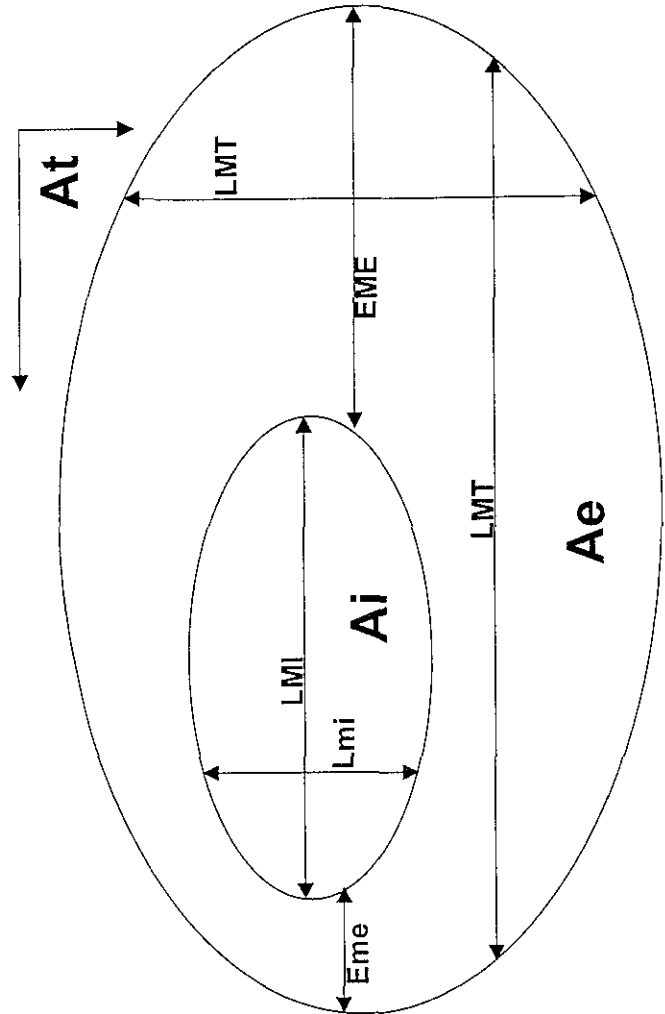
## EVALUACIÓN MORFOMETRICA

Parámetro	SSF-Post	AH-Pre	AH-Post
Area interna	1.30±0.49	1.63±0.23	1.50±0.50
Area total	3.03±0.98	2.92±0.34	3.28±1.26
Area externa	1.67±0.40	1.29±0.12	1.78±0.82
Longitud > interna	0.59±0.26	1.75±0.16	1.74±0.34
Longitud < interna	2.33±0.41	0.81±0.09	0.73±0.27
Longitud > total	1.07±0.37	2.22±0.15	1.83±0.90
Longitud < total	0.42±0.21	1.20±0.12	1.06±0.61
Espesor > externo	0.19±0.04	0.32±0.03	0.48±0.18
Espesor < externo	1.72±0.63	0.15±0.05	0.23±0.82

**Cuadro 3.** Evaluación morfométrica de los anillos traqueales. Los datos se presentan como promedio±DE. ANDEVA entre los tres grupos de estudio = ns en todos los parámetros evaluados. SSF = Solución Salina Fisiológica. AH = Acido hialurónico. Area expresada en cm<sup>2</sup>, longitud y espesor en cm.



Gráfica 3: Correlación lineal entre el porcentaje de estenosis y el área externa (mucosa, submucosa, lámina propia y cartilago).



**Area:**

- Interna ( $A_i$ )
- Externa ( $A_e$ )
- Total ( $A_t$ )

**Longitud:**

- Mayor Interna ( $LMI$ )
- Menor Interna ( $Lmi$ )
- Mayor Total ( $LMT$ )
- Menor Total ( $Lmt$ )

**Espesor:**

- Mayor Externo ( $EME$ )
- Menor Externo ( $Eme$ )

**DIAGRAMA DE REFERENCIA**

Diagrama 1

## VII. DISCUSIÓN.

En la práctica diaria de la cirugía clínica, se presentan numerosos retos e interrogantes para quien la ejerce y uno de estos problemas es el tratamiento adecuado de las lesiones traqueales, entre las que sobresalen las estenosis post intubación, las cuales requieren de la resección y reconstrucción del segmento traqueal afectado. Sin embargo la realización de esta técnica quirúrgica, frecuentemente se complica con reestenosis del segmento traqueal operado en un 21% de los casos (4).

Para resolver este problema se han intentado el uso de diferentes tejidos protésicos e incluso la realización de trasplantes (5, 38) así como la administración de diferentes moduladores de la cicatrización como la colágena polivinil pirrolidona (25).

Debido a que el ácido hialurónico es un modulador de la fibrogénesis de colágena durante el proceso de cicatrización, acelerando su depósito y organizándola en un patrón mesenquimatoso muy parecido al normal, en forma unidireccional y fibrilar, evitando la formación de fibrosis (24); en este estudio se evaluó el efecto de la aplicación de ácido hialurónico sobre la cicatrización traqueal, después de realizar una traqueoplastia en perros.

Con respecto a la evolución clínica al relacionarla con los hallazgos radiológicos, endoscópicos y macroscópicos, se puede considerar que el estridor presentado por los animales del grupo II (SSF), fue provocado por que a nivel de la anastomosis se desarrolló tejido fibroso de consistencia firme que a la tinción con Masson mostró colágena desorganizada, a diferencia del único animal del grupo I

En el que el tejido fibroso desarrollado fue laxo (que incluso, permitía el paso del endoscopio sin dificultad a través de la estenosis) donde se corroboró existencia de colágena organizada por histología. La organización del depósito de la colágena es un efecto del AH, que favorece el rápido movimiento de células mesenquimales, acelera la migración del fibroblasto dentro de la herida hasta un 100% más rápido, acrecentando su habilidad para sintetizar colágena, modulando así, la fibroplasia (23). En ningún caso se presentó disnea, debido a que la estenosis formada, aunque era del 50% de la luz traqueal, no impedía el paso adecuado de aire hacia los pulmones.

Los hallazgos radiológicos vistos en este trabajo fueron significativos, solo cuando se compararon con los observados mediante la endoscopia, únicamente con respecto a la disminución del diámetro traqueal, debido a que radiologicamente no se puede establecer un diagnóstico de estenosis, a menos que se realice una tomografía lineal o broncoscopia (8).

La mejor evolución durante el proceso cicatrización de la anastomosis traqueal, observada por endoscopia en los animales del grupo I, nos indica, que en realidad el efecto del ácido hialurónico disminuye la reacción inflamatoria después del trauma quirúrgico, ya que a partir del día 10 postcirugía, desapareció la hiperemia y edema que mostraron durante la primer semana posterior al procedimiento quirúrgico, a diferencia de los animales del grupo II, en la que se mantuvieron por más tiempo. A este respecto, la respuesta inflamatoria en presencia de AH es mínima, debido a que favorece la proliferación de células mesenquimales creando un infiltrado inflamatorio monocelular, donde la participación del linfocito T en su

reducción de las citocinas que controlan la función del fibroblasto para estimular la formación de colágeno en la herida, está disminuida y con esto hay menor formación de fibrosis (1). Estos hallazgos coinciden con los descritos por Hernández Aguilar en 1996, quien estudio el efecto del AH sobre la cicatrización de anastomosis uretrales en el perro y observó menor grado de estenosis, ausencia de inflamación crónica, menor proceso inflamatorio agudo local y periférico (16).

Al momento de la eutanasia, al correlacionar los hallazgos endoscópicos con los observados macroscópicamente se pudo confirmar que en los perros del grupo II, se mantuvo la estenosis del segmento traqueal anastomosado, así como la presencia de gran cantidad de tejido fibroso de consistencia firme. Además de corroborar que en los animales del grupo de ácido hialurónico si hubo presencia de vasos de neoformación sobre el cartílago y en la mucosa traqueal. Al mismo tiempo se confirmó que el tejido fibroso desarrollado en estos animales era de consistencia laxa.

Estas observaciones concuerdan con las vistas por Cruz Yáñez en 1993, cuando investigó el efecto del AH sobre la cicatrización intestinal en ratas y concluyó que la aplicación de AH en las anastomosis intestinales produce cicatrices laxas, resistentes y no estenosantes (11). También coinciden con los hallazgos de Quiróz Guerrero (1996) quien utilizó el AH en ratas, para evaluar sus efectos sobre la cicatrización del esófago con quemaduras por cáustico y observó menor respuesta inflamatoria macroscópica y microscópica, así como una reparación tisular fina, sin fibrosis (31). Del mismo modo estas observaciones se relacionan con las vistas en

Las anastomosis uretrales tratadas con AH, que desarrollan cicatrices laxas(33). La presencia de vasos de neoformación en los animales del grupo I, se debió a que la angiogénesis se incrementa en presencia de ácido hialurónico (22). Aunque también la neoformación de vasos indica que el proceso de cicatrización todavía no ha concluido y se encuentra en la fase de maduración, la cual puede durar de meses a años, se caracteriza por que durante este periodo desaparece el infiltrado inflamatorio, hay incremento en las uniones cruzadas de las fibras de colágena con el fin de dar una mayor fuerza a la cicatriz, además de que se presenta involución de los vasos sanguíneos formados (este proceso termina cuando la colágena alcanza su densidad máxima, desapareciendo por completo los vasos sanguíneos y la cicatriz se vuelve de aspecto pálido) (9, 35, 36).

La evaluación microscópica en todos los animales de este trabajo, proporcionan evidencia de que en ambos grupos, se presentó cicatrización, caracterizada por el desarrollo de nuevas fibras de colágena; sin embargo la organización, disposición y grosor de las fibras, así como la inflamación, si fué diferente entre los 2 grupos, lo que nos hace considerar que el ácido hialurónico si interviene en la organización y disposición de las fibras de colágena (24).

La inflamación severa con presencia de linfocitos en las muestras de los animales del grupo II, fue debida principalmente a que se presentó un proceso de inflamación crónica en la que los linfocitos muestran el efecto de citocinas proinflamatorias como el factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor  $\beta$  de transformación del crecimiento (20) Sin embargo este tipo de inflamación crónica



siempre termina en cicatrización (aunque esta puede ser con deformidades) (2, 30, 36).

En los animales del grupo I la inflamación fue menor y sin presencia de linfocitos porque el AH limita la acción de éstos (1)

Con respecto a la presencia de células gigantes a cuerpo extraño en la zona de las suturas, en un animal del grupo I y 3 del grupo II, es una respuesta de inflamación crónica granulomatosa, en la cual el material de sutura actuó como un irritante difícil de digerir por los macrófagos, provocó la fusión de éstos y por eso se formaron las células gigantes a cuerpo extraño (30, 35, 36).

El incremento en las concentraciones de colágena por gramo de tejido, observadas en este estudio, se correlacionan con lo visto en la evaluación endoscópica, macroscópica y microscópica, en donde fue evidente la cicatrización, por lo que aparentemente no existen evidencias de que el ácido hialurónico tenga algún efecto sobre la cantidad de colágena producida en la anastomosis traqueal. Estos resultados coinciden con los de otros autores que han estudiado cicatrización en modelos experimentales aplicando diferentes fármacos y no han encontrado alteraciones en la cantidad de colágena que se deposita en la cicatriz (3, 12, 29).

Con respecto al examen morfométrico no hubo cambios en ninguno de los parámetros evaluados en ambos grupos, pero al correlacionar el porcentaje de estenosis con las áreas medidas, solo el área externa tuvo correlación positiva con

a estenosis, sin embargo esto pudo deberse a la inflamación o fibrosis que se produjo en el sitio de la anastomosis traqueal.

### III. CONCLUSIONES

De acuerdo a lo descrito se puede concluir que:

El perro es un modelo experimental para el estudio de la cicatrización en anastomosis traqueales.

La radiografía lateral de cuello es útil para señalar la existencia y localización de una zona de estenosis pero no siempre tiene correlación clínica ni endoscópica.

La traqueoscopia es el procedimiento ideal para valorar macroscópicamente la evolución posquirúrgica de una traqueoplastia en perros.

El ácido hialurónico aplicado después de la realización de traqueoplastias en perros disminuye la inflamación de la anastomosis

El ácido hialurónico no influye sobre la cantidad de colágena depositada en la cicatriz de la anastomosis traqueal después de llevar a cabo traqueoplastias en perros;

Histológicamente la aplicación de ácido hialurónico después de realizar traqueoplastias en perros mejora la calidad de la cicatrización ya que organiza y

distribuye la colágena de forma unidireccional, con lo que se evitan las cicatrices  
profundas.

Las traqueoplastias en el perro tratadas con ácido hialurónico, disminuyen la  
formación de estenosis; cuando ésta sucede es asintomática, relajable y laxa.

La forma de aplicación del ácido hialurónico a la traqueoplastia puede mejorarse  
mediante el uso de una aguja endoscópica de escleroterapia, para permitir una  
mayor permanencia del fármaco en la herida quirúrgica.

Es fundamental contar con un departamento de cirugía experimental dirigido por  
investigadores de tiempo completo y equipado con personal calificado e  
infraestructura necesaria para generar resultados que aporten beneficios  
aplicables a los pacientes.

Este es un trabajo de investigación básica cuya información es confiable y puede  
servir de referencia para otros proyectos de investigación que estén relacionados  
con el estudio de moduladores de la cicatrización.

**K. LITERATURA CITADA**

- 1.- Adolph VR, DiSanto SK, Bleacher JC, et al: The Potential Role of the Lymphocyte in Fetal Wound Healing. *J Pediatric Surg* 28(10): 1316-1620, 1993
- 2.- Angell, W.W., Angell J.D., and Kosek J.C.: Twelve years experience with glutaraldehyde preserved porcine xenografts. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1982; 87: 45-55.
- 3.- Arumugan S. And Nimmannit S. D. The Effect of Immunosuppression on Wound Healing *Surg Gynecol. Obstet.* 1971; 133: 72-4.
- 4.- Backer CL, Mavroudis C, Dunham ME, et al: Intermediate-Term Results of the Free Tracheal Autograft for Long Segment Congenital Tracheal Stenosis. *J Pediatr Surg* 35(6): 813-819, 2000
- 5.- Bodnare E.: Observations on glutaraldehyde-treated heterologous cardiac valves. *Thorax* 1979; 34: 794-800.
- 6.- Brown TJ, Alcorn D, Fraser JR: Adsorption of Hyaluronan Applied to the Surface of Intact Skin. *Journal Investigative Dermatology* 113(5): 740-746, 1999

- 7.- Chan RW, Titze IR: Hyaluronic Acid (With Fibronectin) as a Bioimplante for the Vocal Fold Mucosa. *Laryngoscope* 109(7 Pt1): 1942-1949, 1999
- 8.- Cotton RT, Connor DM, Myer CM: Proposed Grading System For Subglottic Stenosis Based On Endotracheal Tube Sizes. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 108: 319-323, 1994
- 9.- Dellmann H.D. *Histología veterinaria. Sistema respiratorio.* ed. Acribia S.A. Zaragoza España 1993: 159-176.
- 10.- Duranti F, Salti G, Bovani B, et al: Injectable Hyaluronic Acid Gel for Soft Tissue Augmentation. A Clinical And Histological Study. *Dermatologic Surgery* 24(12). 1317-1325, 1998
- 11.- De la Cruz YH *Efecto del Acido Hialuronico Sobre el Mecanismo de Cicatrización del Intestino. Estudio Experimental.* Tesis de Postgrado Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional S. XXI, IMSS, 1993. Localización: T WS93 C955y, Biblioteca del HG CMN La Raza.
- 12.-Filipec M., Phan T.M. Zhao T.Z. Rice B.A. and Foster C.S.: Topical Cyclosporine A and Corneal Wound Healing. *Cornea*. 1992, 11 (6): 546-52.

3.- Guide for the Care and Use of Laboratory Animals U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health Rev. 1985.

4.- Goodman, A., Goodman, L., Rall, T. Y Murad, F.: Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana 1987.

5.- Grillo HC, Donahue DM: Stenosis Tracheal Postintubation. Chest Surg Clin N Am , 1996, 6(4): 725-731.

6 - Hernández AG: Efectos del Acido Hialuronico Sobre el Mecanismo de Cicatrización en la Anastomosis de Uretra. Un estudio Experimental. Hospital General "Gaudencio González Garza", Centro Médico Nacional La Raza, IMSS, 2000

7 - Italiano G, Abatangelo G Jr, Calabro A, et al Guiding Spontaneous Tissue Regeneration for Urethral Reconstruction: Long-term Studies in the Rabbit. Urological Research 26(4): 281-284, 1998

8 - Italiano G, Abatangelo G Jr, Calabro A, et al: Reconstructive Surgery of the Urethra. A Pilot Study in the Rabbit on the Use of Hyaluronan Benzyl Ester (Hyaff-11) Biodegradable Grafts Urological Research 25(2). 137-142, 1997

- 9.- Krauss MC: Recent Advances in Soft Tissue Augmentation. Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery 182 119-128, 1999
- 10.- Krummel TM, Michna BA, Thomas BL, Sporn MB, Nelson JF, Salzberg AM, Cohen IK, Diegelmann RF: Transforming Growth Factor Beta (TGF-B) Induces Fibrosis in a Fetal Wound Model. J Pediatr Surg 23(7): 645-652, 1988
- 11.- Lackgren G, Wahlin N, Stenberg A: Endoscopic Treatment of Children With Vesico-ureteric Reflux. Acta Paediatrica Suppl 88(431): 62-67 1999
- 12.- Longaker MT, Harrison MR, Crombleholme TM, et al: Studies in Fetal Wound Healing: I A Factor in Fetal Serum that Stimulates Deposition of Hialuronic Acid. J Pediatr Surg 24(8): 789-792, 1989
- 13.- Longaker MT, Harrison MR, Langer JC, et al: Studies in Fetal Wound Healing: II. A Fetal Environment Accelerates Fibroblast Migration in Vitro. J Pediatr Surg 24(8): 793-798, 1989
- 14 - Longaker MT, Whitby DJ, Adzick NS, et al. Studies in Fetal Wound Healing. VI. Second and Early Third Trimester Fetal Wound Demonstrate Rapid Collagen Deposition Without Scar Formation J Pediatr Surg 25(1): 63-69, 1990



5 - Loyola, G U. Respuesta Terapeutica con Colágena Polivinil Pirrolidona (Pvp) en un Modelo Experimental de Estenosis en la Traqueoplastia Cervical en el Perro. Tesis para obtener el grado de especialista en Cirugía Torácica. Facultad de Medicina. U.N.A.M. México, D.F. Septiembre del 2001.)

6.- Memories of the Course of Animal Anesthesia and Models of the 12 th Annual Meeting and 1ST International Conference of the Academy of Surgical Research. University of Muenster Department of Surgery. Muenster, Germany, October, 1996.

7.- Nakagawa M, Tanaka M, Miyata T: Evaluation of Collagen Gel and Hyaluronic Acid as Vitreous Substitutes. Ophthalmic Research 29(6):409-420, 1997

8.- Netter F.H. Colección Ciba de Ilustraciones Sobre Anatomía y Embriología, Fisiología, Anatomía Patológica, Síntomas Clínicos y Tratamiento de Enfermedades Tomo VII Sistema Respiratorio. Barcelona España: Salvat Editorres, S A 1984.

9 - Okubo T. Influences of Cyclosporine A on Wound Healing Hokkaido J Medical Sci. 1993, 68 (5): 665-82.

10.-Peacock E.E. Control of wound healing and scar formation in surgical patients Arch Surg. 1981, 116 1325-29

- 1.- Plopper C.G., Mariassy A.T. and Lollini L.O.: Structure as revealed by airway dissection: A comparison of mammalian lungs. *Am Rev Respir Dis.* 1993; 28: S4.
- 2.- Porru D, Campus G, Tudino D, et al: Result of Treatment of Refractory Interstitial Cystitis with Intravesical Hyaluronic Acid. *Urologia Internationalis* 9(1):26-29, 1997
- 3.- Quiróz GJ: Efecto del Acido Hialuronico Sobre el Mecanismo de Cicatrización del Esófago con Quemadura por Cáustico. Un estudio Experimental. Tesis Postgrado. Hospital de Pediatría. Centro Médico Nacional S. XXI, IMSS, 1996. Localización: T WS96 Q8g, Biblioteca del HG CMN La Raza.
- 4.- Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. Título Séptimo, Capítulo Unico. Secretaría de Salud 1987 ) y la
- 5.- Robbins S.L. and Cotran R.S. *Patología Estructural y Funcional* 2da edición. México, D.F.: Interamericana S.A. de C.V. 1984; 53-99.
- 6.- Rubin E. And Farber J.L.: *Patología Fundamentos*. 1ra edición. México, D.F. Medica Panamericana S A. de C.V. 1992. 37-51.)

- 7.- Ruiz López VM. Tesis Profesional: Efecto de los Inmunosupresores en la Fibrosis Pulmonar. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México. México, DF. 1996.
- 8.- Soda M.A., Delgado A., Morales J. Manejo quirúrgico de las estenosis traqueales. *Gaceta Medica de México*. 1994; 130:386-389.
- 9.- Sawada T, Hasegawa K, Tsukada K, et al: Adhesion Preventive Effect of Hyaluronic Acid After Intraperitoneal Surgery in Mice. *Human Reproduction* 14(6):1470-1472, 1999
- 10.- Simon LS: Viscosupplementation Therapy with Intra-articular Hyaluronic Acid: Fact or Fantasy? *Rheumatic Diseases Clinics of North America* 25(2): 345-357 1999
- 11.- Soldati D, Rahm F, Pasche P: Mucosal Wound Healing After Nasal Surgery. A Controlled Clinical Trial on the Efficacy of Hyaluronic Acid Containing Cream. *Drug Research Under Experimental and Clinical Research* 25(6): 253-261, 1999
- 12 - Task Group on Screening For Respiratory Disease in Occupational Settings. *Am Rev Respir Dis* 1982, 126: 952-56

- 3.-2 Tojo, T., Niwaya, K., Sawabata, N., Nezu, K., Kawachi, K and Kitamura, S.:  
Tracheal allogenic immunoresponse is reduced by cryopreservation canine  
experiment. *Transplant Proc.* 1996; 28(3): 1814-1815.
- 4.- Torres, T., Santillan, P., Gaxiola, M., Jasso, R., Olmos, R. y et-al:  
Criopreservación de Tráquea. Estudio Experimental. *Neumología y Cirugía de  
Tórax.* 1991; 1: 8-14.
- 5.- Torres T., Santilan P., Salazar M., Villalba J., Olmos R., Arreola J.L., Lezama  
M., Morales J. Resección y doble anastomosis traquea (Estudio experimental).  
*Rev Inst Nal Enf Resp (México).* 1991, 4:9-14. ),
- 6.- Trevor B. Poole. *The ufaw handbook on the care and management of  
laboratory animals.* The Beagle Six edition. England 1987; Chapter 2, 3,4,5.
- 7.- Thornton MH, Johns DB, Campean JD, et al: Clinical Evaluation of 0.5% Ferric  
Hyaluronato Adhesion Prevention Gel for the Reduction of Adhesions Following  
Peritoneal Cavity Surgery: Open-Label Pilot Study. *Human Reproduction* 13(6):  
1480-1485, 1998
- 8 - Wang T, Cheng HH, Heimbürger O, et al: Intraperitoneal Addition of  
Hyaluronan Improves Peritoneal Dialysis Efficiency *Peritoneal Dialysis  
International* 19(Suppl 2) S106-11. 1999

).- Wen DY: Intra-articular Hyaluronic Acid Injection for Knee Osteoarthritis.  
merican Family Physician 62(3):565-570, 2000